

# EasySep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713  
 INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM  
 FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

Catalog #17887  
 Catalog #17887RF RoboSep™

Positive Selection

Document #10000011550 | Version 03

## ENGLISH

### Description

Isolate highly purified CD138+ (syndecan-1) cells from fresh bone marrow or whole blood by immunomagnetic positive selection.

- Fast and easy-to-use
- No columns required

This kit targets CD138+ cells for positive selection with an antibody recognizing the CD138 surface marker. Desired cells are labeled with antibodies and magnetic particles, and separated without columns using an EasySep™ magnet. Unwanted cells are simply poured off, while desired cells remain in the tube. Isolated cells are immediately available for downstream applications, such as fluorescence in situ hybridization (FISH), flow cytometry, culture, or DNA/RNA extraction.

### Component Descriptions

COMPONENT NAME	COMPONENT #	QUANTITY	STORAGE	SHELF LIFE	FORMAT
EasySep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II Cocktail	17887C	3 x 1 mL	Store at 2 - 8°C. Do not freeze.	Stable until expiry date (EXP) on label.	A combination of monoclonal antibodies in PBS with 0.09% rHA. Includes an Fc receptor blocking antibody.
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100	50100	3 x 1 mL	Store at 2 - 8°C. Do not freeze.	Stable until expiry date (EXP) on label.	A suspension of magnetic particles in water.
EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate	20110	1 x 10 mL	Store at 15 - 25°C.	Stable until expiry date (EXP) on label.	A 10X concentrated red blood cell lysis reagent.

PBS - phosphate-buffered saline; rHA - recombinant human albumin

Components may be shipped at room temperature (15 - 25°C) but should be stored as indicated above.

### Additional Reagent Stability Information

REAGENT NAME	STORAGE	SHELF LIFE
EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (1X dilution)	Store at 2 - 8°C. Do not freeze.	Stable for up to 3 months. Do not exceed the expiry date (EXP) of the original component.

### Sample Preparation

For available fresh and frozen samples, see [www.stemcell.com/primarycells](http://www.stemcell.com/primarycells).

#### PERIPHERAL BLOOD

Collect whole blood in a blood collection tube containing anticoagulant.

#### BONE MARROW

To avoid sample degradation and loss of CD138 from the fragile plasma cells, the samples should be processed as soon as possible and within 72 hours after collection.

1. Dilute the sample 5- to 10-fold in D-PBS (Without Ca++ and Mg++; Catalog #37350) and mix gently by pipetting up and down.
2. OPTIONAL (recommended): Pre-wet a 70 µm strainer with D-PBS. Filter the sample through the pre-wetted strainer to remove bone fragments, cell aggregates, and debris. Rinse the strainer with D-PBS.
3. Centrifuge cells at 300 x g for 10 minutes with the brake off.
4. Using a pipette, carefully remove and discard the plasma, without disturbing the cell pellet. Do not pour.

OPTIONAL: For bone marrow samples > 24 hours old, add DNase I Solution (1 mg/mL; Catalog #07900) at 50 µL per sample or up to 100 µg/mL of the original sample volume to help reduce cell clumping. DNase I Solution can be added directly to the pelleted cells with gentle mixing. Incubate at room temperature (15 - 25°C) for 15 - 30 minutes prior to beginning the EasySep™ protocol.

NOTE: Avoid repeated freeze-thaw cycles of DNase I Solution.

5. Resuspend the cell pellet with EasySep™ Buffer:
- If the sample has low cellularity, or if the sample volume is  $\geq 2.5$  mL, resuspend to the original sample volume.
  - If the sample volume is  $< 2.5$  mL and has high cellularity or cellularity is unknown, resuspend to twice the original sample volume.


## Recommended Medium

EasySep™ Buffer (Catalog #20144), RoboSep™ Buffer (Catalog #20104), or PBS containing 2% fetal bovine serum (FBS) and 1 mM EDTA. Medium should be free of  $\text{Ca}^{++}$  and  $\text{Mg}^{++}$ .

## Directions for Use – Manual EasySep™ Protocols

See pages 1 and 2 for Sample Preparation and Recommended Medium. Refer to Tables 1 and 2 for detailed instructions regarding the EasySep™ procedure.


**Table 1. EasySep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II Protocol**

		EASYSEP™ MAGNET
STEP	INSTRUCTIONS	<b>“The Big Easy” EasySep™ Magnet (Catalog #18001)</b> 
1	Prepare sample within the volume range.	0.5 - 4.5 mL
	Add sample to required tube.	14 mL (17 x 95 mm) polystyrene round-bottom tube (e.g. Catalog #38008)
2	Add 1X EasySep™ RBC Lysis Buffer to sample.	Equal volume to sample
3	Add Selection Cocktail to sample. NOTE: Do not vortex cocktail.	25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ of diluted sample
	Mix and incubate.	RT for 3 minutes
4	Vortex RapidSpheres™. NOTE: Particles should appear evenly dispersed.	30 seconds
5	Add RapidSpheres™ to sample.	25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ of diluted sample
	Mix and incubate.	RT for 3 minutes
6	Add recommended medium to top up the sample to the indicated volume. Mix by gently pipetting up and down 2 - 3 times.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Top up to 5 mL for diluted samples <math>&lt; 2.5</math> mL</li> <li>• Top up to 10 mL for diluted samples <math>\geq 2.5</math> mL</li> </ul>
	Place the tube (without lid) into the magnet and incubate.	RT for 10 minutes
7	Pick up the magnet, and in one continuous motion invert the magnet and tube,* pouring off the supernatant. Remove the tube from the magnet; this tube contains the isolated cells.	Discard supernatant
8	Add recommended medium to top up the sample to the indicated volume. Mix by gently pipetting up and down 2 - 3 times.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Top up to 5 mL for diluted samples <math>&lt; 2.5</math> mL</li> <li>• Top up to 10 mL for diluted samples <math>\geq 2.5</math> mL</li> </ul>
	Place the tube (without lid) into the magnet and incubate.	RT for 3 minutes
9	Pick up the magnet, and in one continuous motion invert the magnet and tube,* pouring off the supernatant. Remove the tube from the magnet; this tube contains the isolated cells.	Discard supernatant
10	Repeat steps as indicated.	Steps 8 and 9 (total of 1 x 10-minute and 2 x 3-minute separations)
11	Resuspend cells in desired medium. Be sure to collect cells from the sides of the tube.	Isolated cells are ready for use

RT - room temperature (15 - 25°C)

\* Leave the magnet and tube inverted for 2 - 3 seconds, then return upright. Do not shake or blot off any drops that may remain hanging from the mouth of the tube.

Table 2. EasySep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II Protocol

		EASYSEP™ MAGNET
		 <b>EasyEights™ (Catalog #18103)</b> <b>14 mL tube</b>
1	Prepare sample within the volume range.	0.5 - 4.5 mL
	Add sample to required tube.	14 mL (17 x 95 mm) polystyrene round-bottom tube (e.g. Catalog #38008)
2	Add 1X EasySep™ RBC Lysis Buffer to sample.	Equal volume to sample
3	Add Selection Cocktail to sample. NOTE: Do not vortex cocktail.	25 µL/mL of diluted sample
	Mix and incubate.	RT for 3 minutes
4	Vortex RapidSpheres™. NOTE: Particles should appear evenly dispersed.	30 seconds
5	Add RapidSpheres™ to sample.	25 µL/mL of diluted sample
	Mix and incubate.	RT for 3 minutes
6	Add recommended medium to top up sample to the indicated volume. Mix by gently pipetting up and down 2 - 3 times.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Top up to 5 mL for diluted samples &lt; 2.5 mL</li> <li>• Top up to 10 mL for diluted samples ≥ 2.5 mL</li> </ul>
	Place the tube (without lid) into the magnet and incubate.	RT for 10 minutes
7	Carefully pipette** (do not pour) off the supernatant. Remove the tube from the magnet; this tube contains the isolated cells.	Discard supernatant
8	Add recommended medium to top up the sample to the indicated volume. Mix by gently pipetting up and down 2 - 3 times.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Top up to 5 mL for diluted samples &lt; 2.5 mL</li> <li>• Top up to 10 mL for diluted samples ≥ 2.5 mL</li> </ul>
	Place the tube (without lid) into the magnet and incubate.	RT for 5 minutes
9	Carefully pipette** (do not pour) off the supernatant. Remove the tube from the magnet; this tube contains the isolated cells.	Discard supernatant
10	Repeat steps as indicated.	Steps 8 and 9 (total of 1 x 10-minute and 2 x 5-minute separations)
11	Resuspend cells in desired medium. Be sure to collect cells from the sides of the tube.	Isolated cells are ready for use


RT - room temperature (15 - 25°C)

\*\* Collect the entire supernatant, all at once, into a single pipette (e.g. for the EasyEights™ 14 mL tube use a 10 mL serological pipette [Catalog #38004]).

## Directions for Use – Fully Automated RoboSep™ Protocol

See pages 1 and 2 for Sample Preparation and Recommended Medium. Refer to Table 3 for detailed instructions regarding the RoboSep™ procedure.

**Table 3. RoboSep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II Protocol**

STEP	INSTRUCTIONS	RoboSep™ (Catalog #21000)	
1	Prepare sample within the volume range.	0.5 - 4.5 mL	
	Add sample to required tube.	14 mL (17 x 95 mm) polystyrene round-bottom tube (e.g. Catalog #38008)	
2	Add 1X EasySep™ RBC Lysis Buffer to sample.	Equal volume to sample	
3	Select protocol. NOTE: Enter volume.	Human CD138 WB and BM Positive Selection II 17887 NOTE: Enter diluted sample volume.	
4	Vortex RapidSpheres™. NOTE: Particles should appear evenly dispersed.	30 seconds	
5	Load the carousel. NOTE: Do not vortex cocktail.	Follow on-screen prompts	
	Start the protocol.	Press the green "Run" button	
6	Unload the carousel when the run is complete. Remove the tube containing the isolated cells and resuspend in desired medium. Be sure to collect cells from the sides of the tube.	Isolated cells are ready for use	

## Notes and Tips

### EASYSEP™ RED BLOOD CELL LYSIS BUFFER

EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer is supplied as a 10X concentrate. Prepare 1X lysis buffer at least 1 hour before use by adding 1 part 10X lysis buffer to 9 parts distilled or Type 1 water. Mix gently and completely before use.

\*Type I water refers to ultrapure water suitable for use in analytical procedures. It is defined by the American Society for Testing and Materials (ASTM) as having a resistivity of > 18 MΩ-cm, a conductivity of < 0.056 μS/cm, and < 50 ppb of total organic carbons (TOC).

### ASSESSING PURITY

For purity assessment of CD138+ cells by flow cytometry, use the following fluorochrome-conjugated antibody clone:

- Anti-Human CD138 (Syndecan-1) Antibody, Clone MI15 (Catalog #60003)

One of the following methods can also be used:

- Stain for intracellular κ (kappa) and λ (lambda) light chains (e.g. procedure described by Ahmann et al.). Plasma cells express either the kappa or lambda light chain.
- Use alternative markers such as fluorochrome-conjugated Anti-Human CD38 Antibody, Clone HIT2 (Catalog #60014) and Anti-Human CD45 Antibody, Clone HI30 (Catalog #60018) to detect CD38+CD45 variable cells (Kumar et al.).
- Use a fluorochrome-conjugated secondary antibody, such as Goat Anti-Mouse IgG (H+L) Antibody, Polyclonal (Catalog #60138).

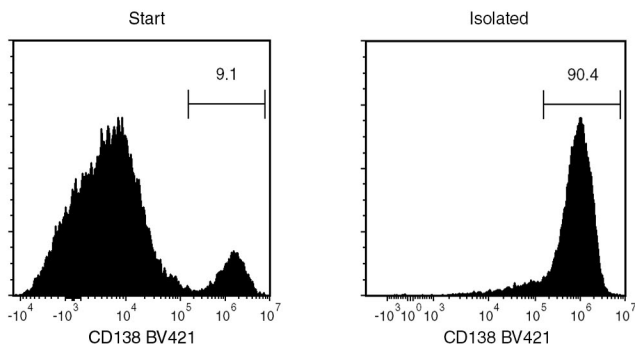
### DONOR VARIABILITY

Certain donors express one or more soluble serum factors that can cause cross-linking with magnetic particles. This may result in visible aggregates in the enriched cell fraction following positive selection. These aggregates may appear as a distinct, high side-scatter population on FSC vs. SSC plots during flow cytometry analysis of the enriched fraction. This population consists solely of particles, with no cells or platelets present, as determined by staining with fluorescently labeled antibodies against dextran, CD41, and CD45.

When processing whole blood, potential aggregation can be avoided by washing away the donor plasma. Dilute the sample 5- to 10-fold in the recommended medium, and centrifuge at 300 x g for 10 minutes. Remove as much plasma as possible without disturbing the white and red blood cells, then resuspend the sample to the original volume with recommended medium before beginning the separation procedure.

If the samples have not been washed, any aggregates can be gated out during flow cytometry analysis of the enriched fraction based on their FSC vs. SSC characteristics, or by their lack of CD45 expression.

## Data



Starting with fresh whole blood spiked with a multiple myeloma cell line, U266, the CD138+ cell content of the selected fraction typically ranges from 83.7 - 98.3%. In the above example, the purities of the start and final isolated fractions are 9.1% and 90.4%, respectively.

NOTE: For samples with CD138+ starting frequency < 10 - 15%, the CD138+ purity of the isolated fraction may be variable.

NOTE: Red blood cells were removed from the start sample by lysis prior to flow cytometry.

## References

Ahmann GJ et al. (1998) A novel three-color, clone-specific fluorescence in situ hybridization procedure for monoclonal gammopathies. *Cancer Genet Cytogenet* 101(1): 7–11.

Kumar S et al. (2010) Immunophenotyping in multiple myeloma and related plasma cell disorders. *Best Pract Res Clin Haematol* 23(3): 433–51.

PRODUCTS ARE FOR RESEARCH USE ONLY AND NOT INTENDED FOR HUMAN OR ANIMAL DIAGNOSTIC OR THERAPEUTIC USES UNLESS OTHERWISE STATED. FOR ADDITIONAL INFORMATION ON QUALITY AT STEMCELL, REFER TO [WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE](http://WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE).

Copyright © 2024 by STEMCELL Technologies Inc. All rights reserved including graphics and images. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, EasyEights, EasySep, RapidSpheres, and RoboSep are trademarks of STEMCELL Technologies Canada Inc. All other trademarks are the property of their respective holders. While STEMCELL has made all reasonable efforts to ensure that the information provided by STEMCELL and its suppliers is correct, it makes no warranties or representations as to the accuracy or completeness of such information.

# EasySep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II

Pour traiter 60 mL de sang total ou de moelle osseuse

Catalogue #17887  
Catalogue #17887RF RoboSep™

Sélection positive

Document #1000011550 | Version 03



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713  
INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM  
FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

## FRANÇAIS

### Description

Isolation de cellules hautement purifiées CD138+ (syndecan-1) à partir de moelle osseuse ou de sang total frais par sélection positive immunomagnétique.

- Rapide et facile à utiliser
- Pas de colonnes nécessaires

Ce kit cible les cellules CD138+ pour la sélection positive avec un anticorps reconnaissant le marqueur de surface CD138. Les cellules recherchées sont marquées avec des anticorps et des particules magnétiques, et séparées sans colonne, à l'aide d'un aimant EasySep™. Les cellules recherchées restent dans le tube tandis que les autres cellules sont simplement éliminées. Les cellules isolées sont immédiatement disponibles pour des applications en aval, telles que l'hybridation in situ en fluorescence (FISH), la cytométrie en flux, la culture ou l'extraction d'ADN/ARN.

### Descriptions des composants

NOM DU COMPOSANT	N° DU COMPOSANT	QUANTITÉ	CONSERVATION	DURÉE DE CONSERVATION	FORMAT
EasySep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II Cocktail	17887C	3 x 1 mL	Conserver à une température comprise entre 2 et 8°C. Ne pas congeler.	Stable jusqu'à la date d'expiration (EXP) indiquée sur l'étiquette.	Combinaison d'anticorps monoclonaux dans du PBS avec 0,09 % de rHA. Inclut un anticorps bloquant le récepteur Fc.
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100	50100	3 x 1 mL	Conserver à une température comprise entre 2 et 8°C. Ne pas congeler.	Stable jusqu'à la date d'expiration (EXP) indiquée sur l'étiquette.	Suspension de particules magnétiques dans de l'eau.
EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate	20110	1 x 10 mL	Conserver à une température comprise entre 15 et 25°C.	Stable jusqu'à la date d'expiration (EXP) indiquée sur l'étiquette.	Réactif de lyse des globules rouges concentré 10X.

PBS - solution saline tamponnée au phosphate; rHA - albumine humaine recombinante

Les composants peuvent être expédiés à température ambiante (15 - 25°C) mais doivent être conservés dans les conditions décrites ci-dessus.

### Informations complémentaires sur la stabilité des réactifs

NOM DU COMPOSANT	CONSERVATION	DURÉE DE CONSERVATION
EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer (1X dilution)	Conserver à une température comprise entre 2 et 8°C. Ne pas congeler.	Stable jusqu'à 3 mois. Ne pas dépasser la date d'expiration (EXP) du composant original.

### Préparation de l'échantillon

Pour voir les échantillons frais et congelés disponibles, consultez [www.stemcell.com/primarycells](http://www.stemcell.com/primarycells).

#### SANG PÉRIPHÉRIQUE

Prélever du sang total dans un tube de prélèvement contenant un anticoagulant.

#### MOELLE OSSEUSE

Pour éviter la dégradation des échantillons et la perte de CD138 à la surface des plasmocytes fragiles, les échantillons doivent être traités dès que possible et dans les 72 heures suivant le prélèvement.

1. Diluer l'échantillon 5 à 10 fois dans du D-PBS (sans Ca++ et Mg++; Catalogue n°37350) et mélanger doucement en pipetant de haut en bas.
2. FACULTATIF (recommandé): Pré-humidifier un filtre stérile de 70 µm avec du D-PBS. Filtrer l'échantillon à travers le tamis préalablement mouillé pour éliminer les fragments d'os, les agrégats cellulaires et les débris. Rincer le tamis avec du D-PBS.
3. Centrifuger les cellules à 300 x g sans frein pendant 10 minutes.
4. À l'aide d'une pipette, retirer et jeter soigneusement le plasma, sans perturber le culot cellulaire. Ne pas transvaser.

OPTIONNEL: Pour les échantillons de moelle osseuse âgés de > 24 heures, ajouter une solution de DNase I (1 mg/mL; Catalogue n°07900) à 50 µL par échantillon ou jusqu'à 100 µg/mL du volume d'échantillon d'origine pour aider à réduire l'agglutination cellulaire. La solution de DNase I peut être

ajoutée directement aux cellules granuleuses en mélangeant doucement. Incuber à température ambiante (15 à 25 °C) pendant 15 à 30 minutes avant de commencer le protocole EasySep™.

REMARQUE : Éviter les cycles répétés de gel-dégel de la solution de DNase I.

5. Remettre en suspension le culot cellulaire avec le tampon EasySep™ :

- Si la cellularité de l'échantillon est faible ou si le volume de l'échantillon est  $\geq 2,5$  mL, remettre en suspension dans un volume égal au volume original de l'échantillon.
- Si le volume de l'échantillon est  $< 2,5$  mL et que la cellularité est élevée ou inconnue, remettre en suspension dans un volume double du volume original de l'échantillon.


## Milieu recommandé

Tampon EasySep™ (Catalogue n°20144), tampon RoboSep™ (Catalogue n°20104), ou PBS contenant 2 % de sérum foetal de bovin (SFB) et 1 mM d'EDTA. Le milieu doit être dépourvu de  $Ca^{++}$  et  $Mg^{++}$ .

## Mode d'emploi – Protocoles manuels EasySep™

Voir les pages 1 et 2 pour la préparation de l'échantillon et le milieu recommandé. Se reporter aux tableaux 1 et 2 pour obtenir des instructions détaillées concernant la procédure EasySep™.

**Tableau 1. Protocole de l'EasySep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II**

		AIMANT EASYSEP™
<b>ÉTAPE</b>	<b>INSTRUCTIONS</b>	<b>Aimant « The Big Easy » EasySep™ (Catalogue n°18001)</b> 
1	Préparer l'échantillon dans la fourchette de volume prescrite.	De 0,5 à 4,5 mL
	Ajouter l'échantillon dans le tube à essai prescrit.	Tube à essai à fond rond en polystyrène de 14 mL (17 x 95 mm) (p. ex., Catalogue n° 38008)
2	Ajouter 1X tampon de lyse des globules rouges EasySep™ à l'échantillon.	Volume égal à celui de l'échantillon
3	Ajouter le cocktail de sélection à l'échantillon. REMARQUE : Ne pas mélanger le cocktail au vortex.	25 $\mu$ L/mL d'échantillon dilué
	Mélanger et incuber.	TA pendant 3 minutes
4	Mélanger les RapidSpheres™ au vortex. REMARQUE : Les particules doivent paraître uniformément dispersées.	30 secondes
5	Ajouter les RapidSpheres™ à l'échantillon.	25 $\mu$ L/mL d'échantillon dilué
	Mélanger et incuber.	TA pendant 3 minutes
6	Ajouter le milieu recommandé jusqu'à obtention du volume d'échantillon indiqué. Mélanger doucement en pipetant deux ou trois fois le liquide.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Compléter jusqu'à 5 mL pour les échantillons dilués <math>&lt; 2,5</math> mL</li> <li>• Compléter jusqu'à 10 mL pour les échantillons dilués <math>\geq 2,5</math> mL</li> </ul>
	Placer le tube à essai (sans le bouchon) dans l'aimant et incuber.	TA pendant 10 minutes
7	Prendre l'aimant et, en un mouvement continu, retourner l'aimant et le tube* pour éliminer le surnageant. Retirer le tube de l'aimant : ce tube contient les cellules isolées.	Éliminer le surnageant
8	Ajouter le milieu recommandé jusqu'à obtention du volume d'échantillon indiqué. Mélanger doucement en pipetant deux ou trois fois le liquide.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Compléter jusqu'à 5 mL pour les échantillons dilués <math>&lt; 2,5</math> mL</li> <li>• Compléter jusqu'à 10 mL pour les échantillons dilués <math>\geq 2,5</math> mL</li> </ul>
	Placer le tube à essai (sans le bouchon) dans l'aimant et incuber.	TA pendant 3 minutes
9	Prendre l'aimant et, en un mouvement continu, retourner l'aimant et le tube* pour éliminer le surnageant. Retirer le tube de l'aimant : ce tube contient les cellules isolées.	Éliminer le surnageant
10	Répéter les étapes comme indiqué.	Étapes 8 et 9 (total de séparations de 1 x 10 minutes et 2 x 3 minutes)
11	Remettre les cellules en suspension dans le milieu voulu. Veiller à prélever les cellules sur les parois du tube.	Les cellules isolées sont prêtes à l'emploi

TA - température ambiante (entre 15 et 25 °C)

\* Laisser l'aimant et le tube retournés pendant 2 ou 3 secondes, puis les remettre à l'endroit. Ne pas secouer ni faire tomber les gouttes qui pourraient rester accrochées à l'ouverture du tube.

Tableau 2. Protocole de l'EasySep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II

		AIMANT EASYSEP™
		EasyEights™ (Catalogue n°18103)
		Tube de 14 mL
		De 0,5 à 4,5 mL
1	Préparer l'échantillon dans la fourchette de volume prescrite.	Tube à essai à fond rond en polystyrène de 14 mL (17 x 95 mm) (p. ex., Catalogue n°38008)
	Ajouter l'échantillon dans le tube à essai prescrit.	
2	Ajouter 1X tampon de lyse des globules rouges EasySep™ à l'échantillon.	Volume égal à celui de l'échantillon
3	Ajouter le cocktail de sélection à l'échantillon. REMARQUE : Ne pas mélanger le cocktail au vortex.	25 µL/ mL d'échantillon dilué
	Mélanger et incuber.	TA pendant 3 minutes
4	Mélanger les RapidSpheres™ au vortex. REMARQUE : Les particules doivent paraître uniformément dispersées.	30 secondes
5	Ajouter les RapidSpheres™ à l'échantillon.	25 µL/ mL d'échantillon dilué
	Mélanger et incuber.	TA pendant 3 minutes
6	Ajouter le milieu recommandé jusqu'à obtention du volume d'échantillon indiqué. Mélanger doucement en pipetant deux ou trois fois.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Compléter jusqu'à 5 mL pour les échantillons dilués &lt; 2,5 mL</li> <li>• Compléter jusqu'à 10 mL pour les échantillons dilués ≥ 2,5 mL</li> </ul>
	Placer le tube à essai (sans le bouchon) dans l'aimant et incuber.	TA pendant 10 minutes
7	Retirer délicatement le surnageant par pipetage** (ne pas transvaser). Retirer le tube de l'aimant : ce tube contient les cellules isolées.	Éliminer le surnageant
8	Ajouter le milieu recommandé jusqu'à obtention du volume d'échantillon indiqué. Mélanger doucement en pipetant deux ou trois fois.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Compléter jusqu'à 5 mL pour les échantillons dilués &lt; 2,5 mL</li> <li>• Compléter jusqu'à 10 mL pour les échantillons dilués ≥ 2,5 mL</li> </ul>
	Placer le tube à essai (sans le bouchon) dans l'aimant et incuber.	TA pendant 5 minutes
9	Retirer délicatement le surnageant par pipetage** (ne pas retourner l'aimant et le tube). Retirer le tube de l'aimant : ce tube contient les cellules isolées.	Éliminer le surnageant
10	Répéter les étapes comme indiqué.	Étapes 8 et 9 (total de séparations de 1 x 10 minutes et 2 x 5 minutes)
11	Remettre les cellules en suspension dans le milieu voulu. Veiller à prélever les cellules sur les parois du tube.	Les cellules isolées sont prêtes à l'emploi

TA - température ambiante (entre 15 et 25°C)


\*\* Prélever la totalité du surnageant en une seule fois avec une seule pipette (p. ex. pour le tube de 14 mL EasyEights™, utiliser une pipette sérologique de 10 mL [Catalogue n°38004]).



## Mode d'Emploi – Protocole entièrement automatisé RoboSep™

Voir les pages 1 et 2 pour la préparation de l'échantillon et le milieu recommandé. Se reporter au tableau 3 pour obtenir des instructions détaillées concernant la procédure RoboSep™.

**Tableau 3. Protocole du RoboSep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II**

ÉTAPE	INSTRUCTIONS	RoboSep™ (en anglais seulement) (Catalogue n°21000)	
1	Préparer l'échantillon dans la fourchette de volume prescrite.	De 0,5 à 4,5 mL	
	Ajouter l'échantillon dans le tube à essai prescrit.	Tube à essai à fond rond en polystyrène de 14 mL (17 x 95 mm) (p. ex., Catalogue n°38008)	
2	Ajouter 1X tampon de lyse des globules rouges EasySep™ à l'échantillon.	Volume égal à celui de l'échantillon	
3	Sélectionner le protocole. REMARQUE : Saisir le volume.	Sélection positive de CD138 dans la moelle osseuse et le sang total humain II 17887 REMARQUE : Saisir le volume de l'échantillon dilué.	
4	Mélanger les RapidSpheres™ au vortex. REMARQUE : Les particules doivent paraître uniformément dispersées.	30 secondes	
5	Charger le carrousel de l'instrument. REMARQUE: Ne pas mélanger le cocktail au vortex.	Suivre les messages de guidage à l'écran.	
	Lancer le protocole.	Appuyer sur le bouton vert « Run »	
6	Décharger le carrousel lorsque le programme est terminé. Retirer le tube contenant les cellules isolées et remettre en suspension dans le milieu voulu. Veiller à prélever les cellules sur les parois du tube.	Les cellules isolées sont prêtes à l'emploi	

## Notes et Conseils

### EASYSEP™ RED BLOOD CELL LYSIS BUFFER

Easysep™ Red Blood Cell Lysis Buffer est fourni sous la forme d'une solution concentrée 10X. Préparez le tampon de lyse 1X au moins 1 heure avant l'utilisation en ajoutant 1 volume de tampon de lyse 10X à 9 volumes d'eau distillée ou de type 1. Mélanger doucement et complètement avant utilisation.

\*L'eau de type I est une eau ultra-pure qui peut être utilisée dans les procédures analytiques. Elle est définie par l'American Society for Testing and Materials (ASTM) comme ayant une résistivité de > 18 MΩ-cm, une conductivité de < 0,056 µS/cm, and < 50 ppb de carbones organiques totaux (COT).

### ÉVALUATION DE LA PURETÉ

Pour l'évaluation de la pureté des cellules CD138+ par cytométrie en flux, utiliser le clone d'anticorps conjugué au fluorochrome suivant :

- Anticorps anti-CD138 humain (syndecan-1), clone MI15 (Catalogue n°60003)

Il est également possible d'utiliser l'une des méthodes suivantes :

- Marquage des chaînes légères intracellulaires κ (kappa) et λ (lambda) (par exemple, procédure décrite par Ahmann et al.). Les plasmocytes expriment la chaîne légère kappa ou lambda.
- Utiliser d'autres marqueurs tels que l'anticorps anti-CD38 humain conjugué à un fluorochrome, clone HIT2 (Catalogue n°60014) et l'anticorps anti-humain CD45, clone HI30 (Catalogue n°60018) pour détecter les cellules variables CD38+CD45 (Kumar et al.).
- Utiliser un anticorps conjugué à des fluorochromes secondaires, comme l'anticorps de chèvre anti-IgG de souris (H+L), polyclonal (Catalogue n°60138).

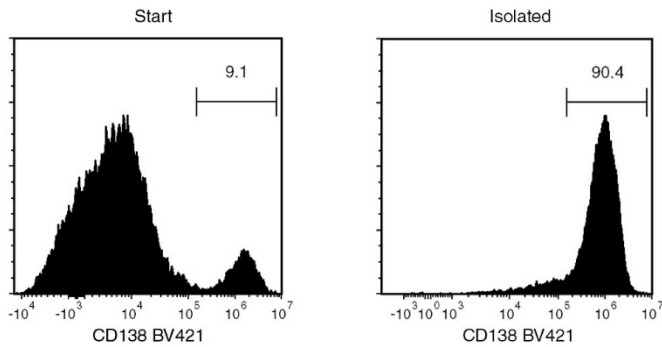
### VARIABILITÉ DU DONNEUR

Certains donneurs expriment un ou plusieurs facteurs solubles dans le sérum qui peuvent entraîner une agrégation avec les particules magnétiques. Cela peut provoquer des agrégats visibles dans la fraction cellulaire enrichie après la sélection positive. Ces agrégats peuvent apparaître sous forme de population à granularité élevée distincte dans les diagrammes FSC/SSC durant l'analyse de la fraction enrichie par cytométrie en flux. Cette population se compose uniquement de particules, sans cellules ni plaquettes, comme déterminé par marquage avec des anticorps conjugués ciblant le dextrane, le CD41 et le CD45.

Lors du traitement du sang total, l'agrégation potentielle peut être évitée en lavant le plasma du donneur. Diluer l'échantillon 5 à 10 fois dans le milieu recommandé et centrifuger à 300 x g pendant 10 minutes. Retirer autant de plasma que possible sans perturber les globules blancs et rouges, puis remettre en suspension l'échantillon dans le volume d'origine avec le milieu recommandé avant de commencer la procédure de séparation.

Si les échantillons n'ont pas été lavés, les agrégats peuvent être éliminés durant l'analyse par cytométrie en flux de la fraction enrichie d'après leurs caractéristiques FSC/SSC, ou par leur absence d'expression du CD45.

## Données



En partant de sang total frais enrichi avec une lignée cellulaire de myélome multiple, U266, la teneur en cellules CD138+ de la fraction sélectionnée varie généralement de 83,7 à 98,3 %. Dans l'exemple ci-dessus, les puretés de départ et de la fraction isolée finale sont de 9,1% et 90,4% respectivement.

REMARQUE: Pour les échantillons ayant une fréquence de départ CD138+ < 10 à 15 %, la pureté CD138+ de la fraction isolée peut être variable.

REMARQUE: Les globules rouges ont été retirés de l'échantillon de départ par lyse avant la cytométrie en flux.

## Références

Ahmann GJ et al. (1998) A novel three-color, clone-specific fluorescence in situ hybridization procedure for monoclonal gammopathies. *Cancer Genet Cytogenet* 101(1): 7–11.

Kumar S et al. (2010) Immunophenotyping in multiple myeloma and related plasma cell disorders. *Best Pract Res Clin Haematol* 23(3): 433–51.

LES PRODUITS SONT UNIQUEMENT DESTINÉS À LA RECHERCHE ET NON AU DIAGNOSTIQUE CHEZ LES ÊTRES HUMAINS OU LES ANIMAUX, NI À UNE UTILISATION THÉRAPEUTIQUE, SAUF INDICATION CONTRAIRE. POUR OBTENIR DES RENSEIGNEMENTS SUPPLÉMENTAIRES SUR LA QUALITÉ À STEMCELL, CONSULTEZ [WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE](http://WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE).

Copyright © 2024 de STEMCELL Technologies Inc. Tous droits réservés, y compris les graphiques et les images. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, EasyEights, EasySep, RapidSpheres et RoboSep sont des marques de commerce de STEMCELL Technologies Canada Inc. Toutes les autres marques de commerce appartiennent à leurs propriétaires respectifs. STEMCELL a déployé tous les efforts raisonnables pour s'assurer que les informations fournies par STEMCELL et ses fournisseurs sont correctes ; toutefois, la société ne donne aucune garantie ni ne fait aucune déclaration concernant l'exactitude ou l'exhaustivité desdites informations.

# EasySep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713  
 INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM  
 FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

Catalogue #17887  
 Catalogue #17887RF RoboSep™

Sélection positive

Document #10000011550 | Version 03

## ESPAÑOL

### Descripción

Aísla células CD138+ (syndecan-1) altamente purificadas a partir de médula ósea o sangre total mediante selección positiva inmunomagnética.

- Rápido y fácil de usar
- No se requieren columnas.

Este kit se centra en células CD138+ para su selección positiva con anticuerpo, reconociendo el marcador de superficie CD138. Las células deseadas se etiquetan con anticuerpos y partículas magnéticas y son separadas sin columnas usando un imán EasySep™. Las células no deseadas son simplemente desechadas y las células deseadas quedan en el tubo. Las células aisladas estarán inmediatamente disponibles para aplicaciones subsiguientes, como hibridación in situ fluorescente (FISH, en inglés), citometría de flujo, cultivos o extracción de ADN/ARN.

### Descripción de los Componentes

NOMBRE DEL COMPONENTE	COMPONENTE Nº	CANTIDAD	ALMACENAMIENTO	VIDA ÚTIL	FORMATO
EasySep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II Cocktail	17887C	3 x 1 mL	Almacenar entre 2 °C a 8 °C. No congelar.	Estable hasta la fecha de vencimiento (EXP) de la etiqueta.	Una combinación de anticuerpos monoclonales en PBS con rHA al 0,09%. Incluye un anticuerpo bloqueador de receptor Fc.
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100	50100	3 x 1 mL	Almacenar entre 2 °C a 8 °C. No congelar.	Estable hasta la fecha de vencimiento (EXP) de la etiqueta.	Una suspensión de partículas magnéticas en agua.
EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate	20110	10 x 1 mL	Almacenar de 15 °C a 25 °C.	Estable hasta la fecha de vencimiento (EXP) de la etiqueta.	Un reactivo de lisis de eritrocitos concentrado a 10X.

PBS - Tampón fosfato salino; rHA - albumina humana recombinante

Los componentes pueden transportarse a temperatura ambiente (de 15 °C a 25 °C), pero deben almacenarse según se indica anteriormente.

### Información Adicional Sobre La Estabilidad del Reactivo

NOMBRE DEL REACTIVO	ALMACENAMIENTO	VIDA ÚTIL
Tampón de lisis de eritrocitos EasySep™ (dilución 1X)	Almacenar entre 2 °C a 8 °C. No congelar.	Estable hasta 3 meses. No exceder la fecha de vencimiento (EXP) del componente original.

### Preparación de la Muestra

Para muestras frescas y congeladas, consulte [www.stemcell.com/primarycells](http://www.stemcell.com/primarycells).

#### SANGRE PERIFÉRICA

Recolectar la sangre total en un tubo de extracción sanguínea que contenga anticoagulante.

#### MÉDULA ÓSEA

Para evitar la degradación de la muestra y la pérdida de CD138 de los plasmocitos, las muestras deben procesarse lo antes posible y dentro de 72 horas tras su recolección.

1. Diluir la muestra entre 5 a 10 veces en D-PBS (sin Ca++ ni Mg++, nº de catálogo 37350) y mezclar suavemente pipeteando arriba y abajo.
2. OPCIONAL (recomendado): Humedecer un filtro de 70 µm con D-PBS. Filtrar la muestra a través del filtro humedecido y retirar los fragmentos óseos, agregados celulares y restos. Lavar el filtro con D-PBS.
3. Centrifugar las células a 300 x g, durante 10 minutos sin freno.
4. Con una pipeta, retirar cuidadosamente el plasma y desecharlo sin tocar el pellet celular. No verter.

OPCIONAL: Con muestras de médula ósea de más de 24 horas, añadir Solución DNase I (1 mg/mL, nº de catálogo 07900) a 50 µL por muestra o hasta 100 µg/mL del volumen de muestra original para ayudar a reducir la aglutinación de células. La Solución DNase I puede añadirse directamente a los pellets mezclando suavemente. Incubar a temperatura ambiente (de 15 °C a 25 °C) de 15 a 30 minutos antes de iniciar el protocolo EasySep™.

NOTA: Evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación de la Solución DNase I.

## 5. Resuspensión del pellet con el tampón EasySep™:

- Si la muestra tiene una celularidad baja o si el volumen de la muestra es  $\geq 2.5$  mL, vuelva a suspender al volumen original de la muestra.
- Si el volumen de la muestra es  $< 2.5$  mL y tiene celularidad alta o desconocida, vuelva a suspenderla a dos veces el volumen original de la muestra.


**Medio Recomendado**

Tampón EasySep™ (n° de catálogo 20144), tampón RoboSep™ (n° de catálogo 20104), o PBS que contenga suero fetal bovino al 2% (FBS) y 1 mM EDTA. El medio debe estar libre de  $Ca^{++}$  y  $Mg^{++}$ .

**Instrucciones de uso – Protocolos EasySep™ manuales**

Consultar las páginas 6 y 7 para la preparación de muestra y el medio recomendado. Remítase a las tablas 1 y 2, para instrucciones detalladas respecto de procedimiento EasySep™.


**Tabla 1. Protocolo de EasySep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II**

		IMÁN EASYSEP™
		<p><b>El imán «The Big Easy» de EasySep™ (n° de catálogo 18001)</b></p> 
1	Prepare la muestra dentro del rango de volumen.	0,5 - 4,5 mL
	Añada la muestra al tubo requerido.	Tubo de poliestireno de fondo redondo de 14 mL (17 mm x 95 mm) (p. ej., n° de catálogo 38008)
2	Añada a la muestra tampón de lisis de eritrocitos EasySep™ 1X.	Igualé el volumen a la muestra
3	Añada el cóctel de selección a la muestra. NOTA: No mezclar el cóctel con vortex.	25 $\mu$ L/mL de muestra diluida
	Mezcle e incube.	TA durante 3 minutos
4	Vortex RapidSpheres™. NOTA: Las partículas deben verse uniformemente dispersas.	30 segundos
5	Añada RapidSpheres™ a la muestra.	25 $\mu$ L/mL de muestra diluida
	Mezcle e incube.	TA durante 3 minutos
6	Añada el medio recomendado para rellenar la muestra hasta el volumen indicado. Mezcle pipeteando suavemente arriba y abajo 2 ó 3 veces.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Resuspenda hasta 5 mL las muestras diluidas de <math>&lt; 2,5</math> mL</li> <li>• Resuspenda hasta 10 mL las muestras diluidas de <math>\geq 2,5</math> mL</li> </ul>
	Coloque el tubo (sin tapa) dentro del imán e incube.	TA durante 10 minutos
7	Recoja el imán y, con un movimiento continuo, invierta el imán y el tubo*, desechando el sobrenadante. Retire el tubo del imán, este tubo contiene las células aisladas.	Deseche el sobrenadante
8	Añada el medio recomendado para rellenar la muestra hasta el volumen indicado. Mezcle pipeteando suavemente arriba y abajo 2 ó 3 veces.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Resuspenda hasta 5 mL las muestras diluidas de <math>&lt; 2,5</math> mL</li> <li>• Resuspenda hasta 10 mL las muestras diluidas de <math>\geq 2,5</math> mL</li> </ul>
	Coloque el tubo (sin tapa) dentro del imán e incube.	TA durante 3 minutos
9	Recoja el imán y, con un movimiento continuo, invierta el imán y el tubo*, desechando el sobrenadante. Retire el tubo del imán, este tubo contiene las células aisladas.	Deseche el sobrenadante.
10	Repita los pasos según se indican.	Los pasos 8 y 9 (total de 1 separación de 10 minutos y 2 de 3 minutos)
11	Vuelva a resuspender las células en el medio deseado. Asegúrese de recoger las células de las paredes del tubo.	Las células aisladas están listas para usarse

TA - temperatura ambiente (de 15 °C a 25 °C)

\* Deje el imán y el tubo invertidos de 2 a 3 segundos, luego vuelva a ponerlo de pie. No sacuda ni seque las gotas que puedan quedar colgando de la boca del tubo.

Tabla 2. Protocolo de EasySep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II

		IMÁN EASYSEP™	
PASO	INSTRUCCIONES		EasyEights™ (n° de catálogo 18103)
			Tubo de 14 mL
1	Prepare la muestra dentro del rango de volumen.		0,5 - 4,5 mL
	Añada la muestra al tubo requerido.		Tubo de poliestireno de fondo redondo de 14 mL (17 mm x 95 mm) (p. ej., n° de catálogo 38008)
2	Añadir a la muestra tampón de lisis de eritrocitos EasySep™ a 1X.		Igualé el volumen a la muestra
3	Añada el cóctel de selección a la muestra. NOTA: No mezclar el cóctel con vortex.		25 µL/mL de muestra diluida
	Mezcle e incube.		TA durante 3 minutos
4	Vortex RapidSpheres™. NOTA: Las partículas deben verse uniformemente dispersas.		30 segundos
5	Añada RapidSpheres™ a la muestra.		25 µL/mL de muestra diluida
	Mezcle e incube.		TA durante 3 minutos
6	Añada el medio recomendado para rellenar la muestra al volumen indicado. Mezcle pipeteando suavemente arriba y abajo 2 ó 3 veces.		<ul style="list-style-type: none"> <li>Resuspenda hasta 5 mL las muestras diluidas de &lt; 2,5 mL</li> <li>Resuspenda hasta 10 mL las muestras diluidas de ≥ 2,5 mL</li> </ul>
	Coloque el tubo (sin tapa) dentro del imán e incube.		TA durante 10 minutos
7	Pipetee cuidadosamente** (no vierta) para desechar el sobrenadante. Retire el tubo del imán, este tubo contiene las células aisladas.		Deseche el sobrenadante.
8	Añada el medio recomendado para rellenar la muestra hasta el volumen indicado. Mezcle pipeteando suavemente arriba y abajo 2 ó 3 veces.		<ul style="list-style-type: none"> <li>Resuspenda hasta 5 mL las muestras diluidas de &lt; 2,5 mL</li> <li>Resuspenda hasta 10 mL las muestras diluidas de ≥ 2,5 mL</li> </ul>
	Coloque el tubo (sin tapa) dentro del imán e incube.		TA durante 5 minutos
9	Pipetee cuidadosamente** (no vierta) para desechar el sobrenadante. Retire el tubo del imán, este tubo contiene las células aisladas.		Deseche el sobrenadante
10	Repita los pasos según se indican.		Los pasos 8 y 9 (total de 1 separación de 10 minutos y 2 de 5 minutos)
11	Vuelva a suspender las células en el medio deseado. Asegúrese de recoger las células de las paredes del tubo.		Las células aisladas están listas para usarse


TA - temperatura ambiente (de 15 °C a 25 °C)

\*\* Recoja todo el sobrenadante de una vez en el interior de una sola pipeta (p. ej., para tubos EasyEights™ de 14 mL, use una pipeta serológica de 10 mL [n° de catálogo 38004]).

## Instrucciones de Uso – Protocolo RoboSep™ completamente automático

Consultar las páginas 6 y 7 para la preparación de muestra y el medio recomendado. Remítase a la tabla 3, para instrucciones detalladas respecto de procedimiento RoboSep™.

**Tabla 3. Protocolo de RoboSep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II**

PASO	INSTRUCCIONES	RoboSep™ (n° de catálogo 21000)	
1	Prepare la muestra dentro del rango de volumen.	0,5 - 4,5 mL	
	Añada la muestra al tubo requerido.	Tubo de poliestireno de fondo redondo de 14 mL (17 mm x 95 mm) (p. ej., n° de catálogo 38008)	
2	Añadir a la muestra tampón de lisis de eritrocitos EasySep™ a 1X.	Igualé el volumen a la muestra	
3	Seleccione el protocolo. NOTA: Poner el volumen	Human CD138 WB and BM Positive Selection II 17887 NOTA: Ingresar el volumen de la muestra diluida	
4	Vortex RapidSpheres™. NOTA: Las partículas deben verse uniformemente dispersas.	30 segundos	
5	Cargue el carrusel. NOTA: No mezclar el cóctel con vortex.	Siga los mensajes en pantalla	
	Inicie el protocolo.	Pulse el botón verde «Run»	
6	Descargue el carrusel cuando termine la ejecución. Retire el tubo que contiene las células aisladas y vuelva a suspenderlas en el medio deseado. Asegúrese de recoger las células de las paredes del tubo.	Las células aisladas están listas para usarse	

## Notas y Consejos

### TAMPÓN DE LISIS DE ERITROCITOS EASYSEPTM

El tampón de lisis de eritrocitos EasySep™ se provee como concentrado a 10X. Prepare un tapón de lisis de 1X al menos 1 hora antes de añadir 1 parte de tampón de lisis a 10X a 9 partes de agua destilada o de Tipo 1. Mezcle suave y completamente antes de usarla.

\*El agua Tipo I se refiere a agua ultrapura adecuada para usarse en procedimientos analíticos. Según la Sociedad Americana para Pruebas y Materiales (ASTM, siglas en inglés), posee una resistividad de > 18 MΩ-cm, una conductividad de < 0,056 µS/cm y carbono orgánico total (TOC) de < 50 ppb.

### CÓMO EVALUAR LA PUREZA

Para evaluar la pureza de las células CD138+ mediante citometría de flujo, emplee el siguiente clon de anticuerpos conjugados con fluorocromo:

- Anti-Human CD138 (Syndecan-1) Antibody, Clon MI15 (n° de catálogo 60003)

Se puede emplear uno de los siguientes métodos:

- Tinción de cadenas ligeras intracelulares κ (kappa) y λ (lambda) (procedimiento de ejemplo descrito en Ahmann et al.). Los plasmocitos expresan la cadena ligera de kappa o lambda.
- Emplee marcadores alternativos como Anti-Human CD38 Antibody, Clon HIT2 (n° de catálogo 60014) y Anti-Human CD45 Antibody, Clon HI30 (n° de catálogo 60018) conjugados con fluorocromo para detectar células variables CD38+CD45 (Kumar et al.).
- Usar un anticuerpo secundario conjugado con fluorocromo, como Goat Anti-Mouse IgG (H+L) Antibody, Polyclonal (n° de catálogo 60138).

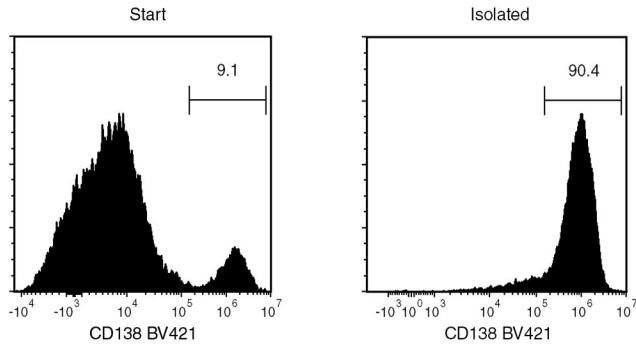
### VARIABILIDAD DEL DONANTE

Ciertos donantes expresan uno o más factores séricos solubles que pueden causar entrecruzamiento con partículas magnéticas. Esto puede resultar en agregados visibles en la fracción celular enriquecida después de la selección positiva. Estos agregados pueden aparecer como una población distinta de alta dispersión lateral en los gráficos FSC frente a SSC durante el análisis de citometría de flujo de la fracción enriquecida. Esta población consta únicamente de partículas, sin células ni plaquetas presentes, según se determina mediante tinción con anticuerpos marcados con fluorescencia contra dextrano, CD41 y CD45.

Cuando se procesa sangre total, se puede evitar la agregación potencial lavando el plasma del donante. Diluir la muestra de 5 a 10 veces en el medio recomendado y centrifugar a 300 x g durante 10 minutos. Retire la mayor cantidad de plasma posible sin alterar los glóbulos blancos y rojos, luego resuspenda la muestra al volumen original con el medio recomendado antes de comenzar el procedimiento de separación.

Si las muestras no se han lavado, los agregados se pueden eliminar durante el análisis de citometría de flujo de la fracción enriquecida en función de sus características FSC frente a SSC, o debido a su falta de expresión de CD45.

## Datos



Comenzando con sangre total fresca enriquecida con una línea celular de mieloma múltiple, U266, el contenido celular de CD138+ de la fracción seleccionada normalmente fluctúa entre 83,7% y 98,3%. En el ejemplo anterior, las purzas de las fracciones aisladas inicial y final son 9.1% y 90.4%, respectivamente.

NOTA: En muestras de CD138+ con una frecuencia de inicio de < 10 - 15%, la pureza de CD138+ de la fracción aislada puede ser variable.

NOTA: Se retiraron los eritrocitos de la muestra inicial mediante lisis antes de la citometría de flujo.

## Referencias

Ahmann GJ et al. (1998) A novel three-color, clone-specific fluorescence in situ hybridization procedure for monoclonal gammopathies. *Cancer Genet Cytogenet* 101(1): 7–11.

Kumar S et al. (2010) Immunophenotyping in multiple myeloma and related plasma cell disorders. *Best Pract Res Clin Haematol* 23(3): 433–51.

LOS PRODUCTOS SON SOLO PARA USO EN INVESTIGACIONES Y NO ESTÁN PREVISTOS PARA DIAGNÓSTICO HUMANO NI ANIMAL, NI USOS TERAPÉUTICOS, SALVO QUE SE INDIQUE LO CONTRARIO. PARA OBTENER INFORMACIÓN ADICIONAL SOBRE LA CALIDAD EN STEMCELL, REMÍTASE A [WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE](http://WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE).

Copyright © 2024 de STEMCELL Technologies Inc. Todos los derechos reservados incluyendo los gráficos e imágenes. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, EasyEights, EasySep, RapidSpheres, y RoboSep son marcas comerciales de STEMCELL Technologies Canada Inc. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos titulares. Si bien STEMCELL ha hecho todos los esfuerzos razonables para garantizar que la información facilitada por STEMCELL y sus proveedores sea correcta, no ofrece garantías ni declaraciones cuanto a la exactitud de dicha información.

# EasySep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II

Para processamento de 60 mL de sangue total ou de medula óssea

Núm. de catálogo 17887

Núm. de catálogo 17887RF RoboSep™

Seleção positiva

Documento nº 10000011550 | Versão 02



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713

INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM

FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

## PORTUGUÊS

### Descrição

Isolamento de células CD138+ (sindecano-1) altamente purificadas de medula óssea ou sangue total frescos por meio de seleção positiva imunomagnética.

- Rápido e fácil de utilizar
- Não são necessárias colunas

Este kit alveja as células CD138+ para seleção positiva com um anticorpo que reconhece o marcador de superfície CD138. As células desejadas são marcadas com anticorpos e partículas magnéticas e separadas sem colunas utilizando um ímã EasySep™. As células não desejadas são simplesmente despejadas enquanto as células desejadas ficam no tubo. As células isoladas estão imediatamente disponíveis para várias aplicações, tais como a hibridização fluorescente in situ (FISH, em inglês), citometria de fluxo, cultura ou extração de ADN/ARN.

### Descrição dos Componentes

NOME DO COMPONENTE	N.º DO COMPONENTE	QUANTIDADE	ARMAZENAMENTO	PRAZO DE VALIDADE	FORMATO
EasySep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II Cocktail	17887C	3 x 1 mL	Armazenar a 2 - 8 °C. Não congelar.	Estável até à data de validade (EXP) indicada no rótulo.	Uma combinação de anticorpos monoclonais em PBS com 0,09% rHA. Inclui um recetor Fc de bloqueio de anticorpo.
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100	50100	3 x 1 mL	Armazenar a 2 - 8 °C. Não congelar.	Estável até à data de validade (EXP) indicada no rótulo.	Uma suspensão de partículas magnéticas em água.
EasySep™ Red Blood Cell Lysis Buffer, 10X Concentrate	20110	1 x 10 mL	Armazenar a 15 - 25 °C.	Estável até à data de validade (EXP) indicada no rótulo.	Um reagente para lise de hematies concentrado a 10X.

PBS - solução salina tamponada com fosfato; rHA - albumina recombinante humana

Os componentes podem ser enviados à temperatura ambiente (15 - 25 °C), mas devem ser armazenados conforme indicado acima.

### Informação Adicional Sobre a Estabilidade do Reagente

NOME DO REAGENTE	ARMAZENAMENTO	PRAZO DE VALIDADE
Tampão de Lise de hematies EasySep™ (diluição a 1X)	Armazenar a 2 - 8 °C. Não congelar.	Estável durante até 3 meses. Não exceder a data de validade (EXP) do componente original.

### Preparação da Amostra

Para amostras frescas e congeladas disponíveis, consultar [www.stemcell.com/primarycells](http://www.stemcell.com/primarycells).

#### SANGUE PERIFÉRICO

Recolher sangue total num tubo de colheita de sangue contendo um anticoagulante.

#### MEDULA ÓSSEA

Para evitar a degradação da amostra e a perda de CD138 das células plasmáticas frágeis, as amostras devem ser processadas tão rapidamente quanto possível e no prazo de 72 horas após a colheita.

1. Diluir a amostra 5 a 10 vezes em D-PBS (sem Ca++ e Mg++; núm. de catálogo 37350) e misturar suavemente com a pipeta.
2. OPCIONAL (recomendado): Molhar previamente um filtro de 70 µm com D-PBS. Filtrar a amostra pelo filtro previamente molhado para retirar fragmentos de osso, agregados de células e detritos. Lavar o filtro com D-PBS.
3. Centrifugar as células a 300 x g durante 10 minutos sem o travão.
4. Usando a pipeta, retirar cuidadosamente e descartar o plasma, sem perturbar o pellet celular. Não despejar.

OPCIONAL: Para amostras de medula óssea com menos de 24 horas, adicionar DNase I Solução (1 mg/mL; núm. de catálogo 07900) a 50 µL por amostra ou até 100 µg/mL do volume da amostra original para ajudar a reduzir a aglomeração de células. A DNase I Solução pode ser adicionada diretamente às células agregadas com uma mistura suave. Incubar à temperatura ambiente (15 - 25 °C) durante 15 a 30 minutos antes de iniciar o protocolo EasySep™.

NOTA: Evitar os ciclos repetitivos de congelar-descongelar da DNase I Solução.



5. Ressuspender o pellet celular com o Tampão EasySep™:
- Se a amostra tiver uma baixa celularidade, ou se o volume da amostra for  $\geq 2,5$  mL, ressuspender ao volume da amostra original.
  - Se o volume da amostra for inferior a 2,5 mL e tiver uma alta celularidade ou a celularidade for desconhecida, ressuspender a duas vezes o volume da amostra original.


## Meio Recomendado

Tampão EasySep™ (núm. de catálogo 20144), Tampão RoboSep™ (núm. de catálogo 20104) ou PBS contendo 2% de soro fetal bovino (FBS) e 1 mM de EDTA. O meio deve estar isento de  $Ca^{++}$  e  $Mg^{++}$ .

## Instruções de Utilização – Protocolos Manuais do EasySep™

Consultar páginas 11 e 12 para ver a "Preparação da Amostra" e o "Meio Recomendado". Consultar as Tábuas 1 e 2 para ver instruções pormenorizadas sobre o procedimento do EasySep™.


**Tabela 1. Protocolo do EasySep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II**

		ÍMAN EASYSEP™
ETAPA	INSTRUÇÕES	Íman "Big Easy" EasySep™ (Núm. de catálogo 18001) 
1	Preparar a amostra dentro da variação de volume.	0,5 - 4,5 mL
	Adicionar a amostra ao tubo correto.	Tubo de 14 mL (17 x 95 mm) de poliestireno com fundo arredondado (p. ex., núm. de catálogo 38008)
2	Adicionar 1X Tampão de Lise de hematies EasySep™ à amostra.	Volume igual à amostra
3	Adicionar Cocktail de Seleção à amostra. NOTA: Não agitar o cocktail em vórtex.	25 $\mu$ L/mL de amostra diluída
	Misturar e incubar.	TA durante 3 minutos
4	Vortex RapidSpheres™. NOTA: As partículas devem estar igualmente dispersas.	30 segundos
5	Adicionar RapidSpheres™ à amostra.	25 $\mu$ L/mL de amostra diluída
	Misturar e incubar.	TA durante 3 minutos
6	Adicionar o meio recomendado para encher a amostra até ao volume indicado. Misturar com a pipeta 2 - 3 vezes.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Encher até 5 mL para amostras diluídas &lt; 2,5 mL</li> <li>• Encher até 10 mL para amostras diluídas <math>\geq 2,5</math> mL</li> </ul>
	Colocar o tubo (sem tampa) num íman e incubar.	TA durante 10 minutos
7	Pegar no íman e num só movimento contínuo inverter o imã e o tubo,* despejando o sobrenadante. Retirar o tubo do íman; este tubo contém as células isoladas.	Descartar o sobrenadante
8	Adicionar o meio recomendado para encher a amostra até ao volume indicado. Misturar com a pipeta 2 - 3 vezes.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Encher até 5 mL para amostras diluídas &lt; 2,5 mL</li> <li>• Encher até 10 mL para amostras diluídas <math>\geq 2,5</math> mL</li> </ul>
	Colocar o tubo (sem tampa) num íman e incubar.	TA durante 3 minutos
9	Pegar no íman e num só movimento contínuo inverter o imã e o tubo,* despejando o sobrenadante. Retirar o tubo do imã; este tubo contém as células isoladas.	Descartar o sobrenadante
10	Repetir as etapas como indicado.	Etapas 8 e 9 (separações num total de 1 x 10 minutos e 2 x 3 minutos)
11	Ressuspender as células no meio desejado. Não esquecer de recolher as células nos lados do tubo.	As células isoladas estão prontas para uso

TA - temperatura ambiente (15 - 25 °C)

\* Deixar o íman e o tubo invertido durante 2 - 3 segundos, depois voltar a virar para cima. Não agitar nem absorver as gotas que possam ficar presas no bocal do tubo.

Tabela 2. Protocolo do EasySep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II

		ÍMAN EASYSEP™	
		EasyEights™ (núm. de catálogo 18103)	
		Tubo de 14 mL	
			
			0,5 - 4,5 mL
1	Preparar a amostra dentro da variação de volume.		
	Adicionar a amostra ao tubo correto.		Tubo de 14 mL (17 x 95 mm) de poliestireno com fundo arredondado (p. ex., núm. de catálogo 38008)
2	Adicionar 1X Tampão de Lise de hematies EasySep™ à amostra.		Volume igual à amostra
3	Adicionar Cocktail de Seleção à amostra. NOTA: Não agitar o cocktail em vórtex.		25 µL/mL de amostra diluída
	Misturar e incubar.		TA durante 3 minutos
4	Vortex RapidSpheres™. NOTA: As partículas devem estar igualmente dispersas.		30 segundos
5	Adicionar RapidSpheres™ à amostra.		25 µL/mL de amostra diluída
	Misturar e incubar.		TA durante 3 minutos
6	Adicionar o meio recomendado para encher a amostra até ao volume indicado. Misturar com a pipeta 2 - 3 vezes.		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Encher até 5 mL para amostras diluídas &lt; 2,5 mL</li> <li>• Encher até 10 mL para amostras diluídas ≥ 2,5 mL</li> </ul>
	Colocar o tubo (sem tampa) num íman e incubar.		TA durante 10 minutos
7	Com cuidado, pipetar** (não despejar) o sobrenadante para fora. Retirar o tubo do íman; este tubo contém as células isoladas.		Descartar o sobrenadante
8	Adicionar o meio recomendado para encher a amostra até ao volume indicado. Misturar com a pipeta 2 - 3 vezes.		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Encher até 5 mL para amostras diluídas &lt; 2,5 mL</li> <li>• Encher até 10 mL para amostras diluídas ≥ 2,5 mL</li> </ul>
	Colocar o tubo (sem tampa) num íman e incubar.		TA durante 5 minutos
9	Com cuidado, pipetar** (não despejar) o sobrenadante para fora. Retirar o tubo do íman; este tubo contém as células isoladas.		Descartar o sobrenadante
10	Repetir as etapas como indicado.		Etapas 8 e 9 (separações num total de 1 x 10 minutos e 2 x 5 minutos)
11	Ressuspender as células no meio desejado. Não esquecer de recolher as células nos lados do tubo.		As células isoladas estão prontas para uso


TA - temperatura ambiente (15 - 25 °C)

\*\* Recolher todo o sobrenadante, todo de uma vez, numa só pipeta (por exemplo, com o tubo EasyEights™ de 14 mL, utilizar uma pipeta serológica de 10 mL [núm. de catálogo 38004]).

## Instruções de Utilização – Protocolo do RoboSep™ Totalmente Automatizado

Consultar páginas 11 e 12 para ver a "Preparação da Amostra" e o "Meio Recomendado". Consultar a Tabela 3 para ver instruções pormenorizadas relativamente ao procedimento do RoboSep™.

**Tabela 3. Protocolo do RoboSep™ Human Whole Blood and Bone Marrow CD138 Positive Selection Kit II**

ETAPA	INSTRUÇÕES	RoboSep™ (núm. de catálogo 21000)	
1	Preparar a amostra dentro da variação de volume.	0,5 - 4,5 mL	
	Adicionar a amostra ao tubo correto.	Tubo de 14 mL (17 x 95 mm) de poliestireno com fundo arredondado (p. ex., núm. de catálogo 38008)	
2	Adicionar 1X Tampão de Lise de hematies EasySep™ à amostra.	Volume igual à amostra	
3	Selecionar o protocolo. NOTA: Introduzir o volume.	Human CD138 WB and BM Positive Selection II 17887 NOTA: Introduzir o volume da amostra diluída.	
4	Vortex RapidSpheres™. NOTA: As partículas devem estar igualmente dispersas.	30 segundos	
5	Carregar o carrossel. NOTA: Não agitar o cocktail em vórtex.	Seguir as indicações que aparecem no ecrã	
	Iniciar o protocolo.	Pressionar o botão verde "Run" (Executar)	
6	Descarregar o carrossel quando o processo tiver terminado. Retirar o tubo contendo as células isoladas e ressuspender no meio desejado. Não esquecer de recolher as células nos lados do tubo.	As células isoladas estão prontas para uso	

## Notas e sugestões

### TAMPÃO DE LISE DE HEMATIES EASYSEP™

O Tampão de Lise de hematies EasySep™ é fornecido como um concentrado a 10X. Preparar 1X tampão de lise, pelo menos 1 hora antes do uso, adicionando 1 parte de tampão de lise a 10X a 9 partes de água destilada ou Tipo 1. Misturar suavemente e completamente antes do uso.

\*A água de Tipo 1 refere-se a água ultra pura adequada para uso em procedimentos analíticos. É definida pela American Society for Testing and Materials (ASTM - Sociedade Americana para Testes e Materiais) como tendo uma resistividade de > 18 MΩ-cm, uma condutividade de < 0,056 µS/cm e < 50 ppb de carbono orgânico total (COT).

### AValiação da Pureza

Para avaliar a pureza das células CD138+ por meio de citometria de fluxo, utilizar o seguinte clone de anticorpo conjugado com fluorocromo:

- Anti-Human CD138 (Syndecan-1) Antibody, Clone MI15 (núm. de catálogo 60003)

Também pode ser utilizado um dos seguintes métodos:

- Marcar as cadeias leves intracelulares κ (kappa) e λ (lambda) (por exemplo, o procedimento descrito por Ahmann et al.). As células de plasma expressam a cadeia leve kappa ou lambda.
- Utilizar marcadores alternativos, tais como o Anti-Human CD38 Antibody, Clone HIT2 com fluorocromo, Clone HIT2 (núm. de catálogo 60014) e o Anti-Human CD45 Antibody, Clone HI30 (núm. de catálogo 60018) para detetar as células variáveis CD38+CD45 (Kumar et al.).
- Utilizar um anticorpo secundário conjugado com fluorocromo, tal como o Goat Anti-Mouse IgG (H+L) Antibody, Polyclonal (núm. de catálogo 60138).

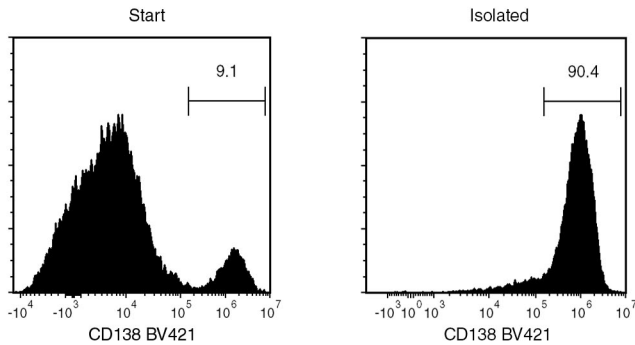
### VARIABILIDADE DO DOADOR

Certos doadores expressam um ou mais fatores séricos solúveis que podem causar reticulação com partículas magnéticas. Isso pode resultar em agregados visíveis na fração de células enriquecidas após a seleção positiva. Esses agregados podem aparecer como uma população de dispersão lateral alta distinta em gráficos de FSC vs. SSC durante a análise de citometria de fluxo da fração enriquecida. Esta população consiste apenas em partículas, sem células ou plaquetas presentes, conforme determinado pela coloração com anticorpos marcados com fluorescência contra dextrano, CD41 e CD45.

Ao processar o sangue total, a agregação potencial pode ser evitada lavando o plasma do doador. Diluir a amostra 5 a 10 vezes no meio recomendado e centrifugar a 300 x g por 10 minutos. Remova o máximo de plasma possível sem perturbar os glóbulos brancos e vermelhos e, em seguida, ressuspensa a amostra ao volume original com o meio recomendado antes de iniciar o procedimento de separação.

Se as amostras não foram lavadas, quaisquer agregados podem ser eliminados durante a análise de citometria de fluxo da fração enriquecida com base em suas características FSC vs. SSC, ou por sua falta de expressão de CD45.

## Dados



Começando com sangue total fresco marcado com uma linha de células de mieloma múltiplo, U266, o conteúdo de células CD138+ da fração selecionada varia, tipicamente, entre 83,7 - 98,3%. No exemplo acima, as purezas das frações isoladas inicial e final são 9,1% e 90,4%, respectivamente.

NOTA: Para amostras com uma frequência inicial de CD138+ < 10 - 15%, a pureza de CD138+ da fração isolada pode ser variável.

NOTA: Os hematies foram retirados da amostra inicial por meio de lise, antes da citometria de fluxo.

## Referências

Ahmann GJ et al. (1998) A novel three-color, clone-specific fluorescence in situ hybridization procedure for monoclonal gammopathies. *Cancer Genet Cytogenet* 101(1): 7–11.

Kumar S et al. (2010) Immunophenotyping in multiple myeloma and related plasma cell disorders. *Best Pract Res Clin Haematol* 23(3): 433–51.

OS PRODUTOS SÃO SOMENTE PARA UTILIZAÇÃO EM INVESTIGAÇÃO E NÃO SE DESTINAM A DIAGNÓSTICO EM HUMANOS OU ANIMAIS NEM A UTILIZAÇÃO TERAPÊUTICA, SALVO ESPECIFICAÇÃO EM CONTRÁRIO. PARA OBTER MAIS INFORMAÇÕES SOBRE A QUALIDADE NA STEMCELL, CONSULTAR [WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE](http://WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE).

Copyright © 2024 by STEMCELL Technologies Inc. Todos os direitos reservados, incluindo gráficos e imagens. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, EasyEights, EasySep, RapidSpheres, e RoboSep são marcas comerciais da STEMCELL Technologies Canada Inc. Todas as outras marcas comerciais são propriedade dos seus respectivos proprietários. Apesar de a STEMCELL ter feito todos os esforços razoáveis para assegurar que a informação fornecida pela STEMCELL e seus fornecedores está correta, não são dadas quaisquer garantias ou representações quanto à exatidão ou integralidade dessa informação.