

# EasySep™ EasySep™小鼠 CD19 正选试剂盒 II

正选

产品号 #18954

用于标记多达  $2 \times 10^9$  个细胞



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

STEMCELL Technologies China Co. Ltd. • 中国上海市黄浦区湖滨路 150 号  
企业天地 5 号 2336 室 • 邮编 200021

电话: +86 400 885 9050 • E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

欲查询全球联系方式,请访问 WWW.STEMCELL.COM

仅供研究使用。不可用于人或动物的诊断或治疗。

## 描述

通过免疫磁珠正选的方法,从小鼠脾细胞的单细胞悬液或其他组织中分离出高纯度的 C19 细胞。

- 快速、简单
- 纯度高达 99%
- 无需分离柱
- 分离的细胞未经荧光标记

该试剂盒通过可识别 CD19 这一表面标志物的抗体标记 CD19+细胞,并将其正选分离出来。目标细胞被抗体和磁珠所标记,再以 EasySep™磁极将其进行分离,然后轻松将非目标倾倒入,而目标细胞则仍留在试管中。细胞倾倒入一个新试管中,无需使用分离柱。分离出的细胞可立即用于下游应用,如流式分析、细胞培养和基于细胞的实验。

## 组分说明

组分名称	组分 #	数量	保存条件	保质期	规格
EasySep™小鼠 CD19 正选试剂盒 II 组分 A	18954CA	1 x 0.5 mL	保存于 2 - 8°C。 不可冷冻储存。	可稳定保存直至标签上的有效期 (EXP)。	多种单克隆抗体的混合物,溶于含 0.1% BSA 和 10% HPCD 的 PBS 中。
EasySep™小鼠 CD19 正选试剂盒 II 组分 B	18954CB	1 x 0.5 mL	保存于 2 - 8°C。 不可冷冻储存。	可稳定保存直至标签上的有效期 (EXP)。	多种单克隆抗体的混合物,溶于含 0.1% BSA 和 10% HPCD 的 PBS 中。
EasySep™葡聚糖 RapidSpheres™ 50100	50100	1 x 1 mL	保存于 2 - 8°C。 不可冷冻储存。	可稳定保存直至标签上的有效期 (EXP)。	磁珠悬液,溶于水中。
RoboSep™空管	27401	1	-	-	-

BSA - 牛血清白蛋白; HPCD - 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin; PBS - 磷酸盐缓冲液

各组分可以在室温 (15 - 25°C) 下运输,并应在货物送达后遵循其保存条件进行保存。

## 其他试剂的稳定性信息

试剂名称	保存条件	保质期
分选抗体混合物 (结合组分 A + 组分 B)	保存于 2 - 8°C。不可冷冻储存。	可稳定储存长达 4 周。不要超过每种组分的有效期 (EXP)。

## 样本制备

使用添加了 2% 胎牛血清 (FBS) 的 PBS 或 Hank's 平衡盐溶液解离脾脏。使细胞悬液通过 70 μm 孔径的尼龙网过滤器,以去除聚集体和碎片。在 300 x g 下离心 10 分钟后,用推荐的缓冲液制备成浓度为  $1 \times 10^8$  个/mL 的有核细胞悬液。不建议使用氯化铵处理制备用于分选的细胞悬液。

## 推荐缓冲液

EasySep™缓冲液 (产品号 #20144)、RoboSep™缓冲液 (产品号 #20104), 或含 2% FBS 的 PBS (其中添加 1 mM EDTA)。缓冲液中应不含 Ca<sup>++</sup>和 Mg<sup>++</sup>。

## 使用说明 - EasySep™手动操作流程

请查看第 1 页中的“样本制备”和“推荐缓冲液”部分。参阅表 1 和表 2 以查看每种磁极相应的 EasySep™分选流程具体说明。

表 1. EasySep™小鼠 CD19 正选试剂盒 II 的流程说明

		EASYSEP™磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	“The Big Easy” (产品号 #18001) 
1	在允许的体积范围内按指示的细胞浓度制备样本。	1 x 10e8 个细胞/mL 0.25 - 2 mL	1 x 10e8 个细胞/mL 0.5 - 8 mL
	向指定试管中加入样本。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯圆底试管 (如: Corning®, 产品号 #352058)	14 mL (17 x 100 mm) 聚苯乙烯圆底试管 (如: Corning®, 产品号 #352057)
2	在试管中制备分选抗体混合物。对于每 mL 样本加入 50 µL 的抗体混合物 (25 µL 组分 A + 25 µL 组分 B)。	将相同体积的组分 A 和组分 B 相混合。 制备的抗体混合物在 2 - 8°C 下可稳定保存 4 周时间。	将相同体积的组分 A 和组分 B 相混合。 制备的抗体混合物在 2 - 8°C 下可稳定保存 4 周时间。
	孵育。	孵育 5 分钟 (RT)	孵育 5 分钟 (RT)
3	向样本中加入分选抗体混合物。	50 µL/mL 的样本	50 µL/mL 的样本
	混匀并孵育。	孵育 3 分钟 (RT)	孵育 3 分钟 (RT)
4	将 RapidSpheres™涡旋震荡。	30 秒	30 秒
5	向样本中加入 RapidSpheres™。	75 µL/mL 的样本	75 µL/mL 的样本
	混匀并孵育。	孵育 3 分钟 (RT)	孵育 3 分钟 (RT)
6	向样本中加入推荐缓冲液以使其达到所指示的体积。轻轻上下吹打细胞悬液 2 - 3 次以将其混合均匀。	加至 2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 如果起始样本 &lt; 2.5 mL, 则加至 3 mL</li> <li>• 如果起始样本 ≥ 2.5 mL, 则加至 10 mL</li> </ul>
	将试管 (不带盖) 放入磁极中并进行孵育。	孵育 3 分钟 (RT)	孵育 3 分钟 (RT)
8	拿起磁极, 动作连贯地倒置磁极和试管, 倾出上清液。将试管从磁极中取出, 该试管内即为分离出的细胞。	倾出上清液	倾出上清液
9	按指示需重复的步骤。	重复步骤 6 和 7 (共进行 2 次分选, 每次 3 分钟)	重复步骤 6 和 7 (共进行 2 次分选, 每次 3 分钟)
10	在所需缓冲液中重悬细胞。应确保从试管边缘收集细胞。	分选出的细胞可立即应用	分选出的细胞可立即应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

将磁极和试管在倒置状态下保持 2 - 3 秒钟后再恢复正立状态。请勿摇晃或通过管口接触可能仍挂在试管口的液滴。

表 2. EasySep™小鼠 CD19 正选试剂盒 II 的流程说明

		EASYSEP™磁极	
步骤	说明	EasyEights™ (产品号 #18103)	
		5 mL 试管	14 mL 试管
1	在允许的体积范围内按指示的细胞浓度制备样本。	1 x 10e8 个细胞/mL 0.5 - 2 mL	1 x 10e8 个细胞/mL 0.5 - 8 mL
	向指定试管中加入样本。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯圆底试管 (如: Corning®, 产品号 #352058)	14 mL (17 x 100 mm) 聚苯乙烯圆底试管 (如: Corning®, 产品号 #352057)
2	在试管中制备分选抗体混合物。对于每 mL 样本加入 50 µL 的抗体混合物 (25 µL 组分 A + 25 µL 组分 B)。	将相同体积的组分 A 和组分 B 相混合。 制备的抗体混合物在 2 - 8°C 下可稳定保存 4 周时间。	将相同体积的组分 A 和组分 B 相混合。 制备的抗体混合物在 2 - 8°C 下可稳定保存 4 周时间。
	孵育。	孵育 5 分钟 (RT)	孵育 5 分钟 (RT)
3	向样本中加入分选抗体混合物。	50 µL/mL 的样本	50 µL/mL 的样本
	混匀并孵育。	孵育 3 分钟 (RT)	孵育 3 分钟 (RT)
4	将 RapidSpheres™ 涡旋震荡。	30 秒	30 秒
5	向样本中加入 RapidSpheres™。	75 µL/mL 的样本	75 µL/mL 的样本
	混匀并孵育。	孵育 3 分钟 (RT)	孵育 3 分钟 (RT)
6	向样本中加入推荐缓冲液以使其达到所指示的体积。轻轻上下吹打细胞悬液 2 - 3 次以将其混合均匀。	加至 2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>如果起始样本 &lt; 2.5 mL, 则加至 3 mL</li> <li>如果起始样本 ≥ 2.5 mL, 则加至 10 mL</li> </ul>
	将试管 (不带盖) 放入磁极中并进行孵育。	孵育 10 分钟 (RT)	孵育 10 分钟 (RT)
7	将富集后的细胞悬液小心吸出™ (不要倾倒) 上清液。将试管从磁极中取出, 该试管内即为分离出的细胞。	移除上清液	移除上清液
8	向样本中加入推荐缓冲液以使其达到所指示的体积。轻轻上下吹打细胞悬液 2 - 3 次以将其混合均匀。	加至 2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>如果起始样本 &lt; 2.5 mL, 则加至 3 mL</li> <li>如果起始样本 ≥ 2.5 mL, 则加至 10 mL</li> </ul>
	将试管 (不带盖) 放入磁极中并进行孵育。	孵育 5 分钟 (RT)	孵育 5 分钟 (RT)
9	将富集后的细胞悬液小心吸出™ (不要倾倒) 上清液。将试管从磁极中取出, 该试管内即为分离出的细胞。	倾倒入上清液	倾倒入上清液
10	在所需缓冲液中重悬细胞。应确保从试管边缘收集细胞。	分选出的细胞可立即应用	分选出的细胞可立即应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

™将所有富集后的细胞悬液一次性地用一支移液管进行收集 (比如: 对于 EasyEights™ 5 mL 试管, 使用一支 2 mL 一次性移液管; 对于 EasyEights™ 14 mL 试管, 使用一支 10 mL 一次性移液管)。

## 使用说明 - RoboSep™全自动细胞分选仪操作流程

请查看第 1 页中的“样本制备”和“推荐缓冲液”部分。参阅表 3 以查看 RoboSep™操作流程的具体说明。

**表 3. RoboSep™小鼠 CD19 正选试剂盒 II 的流程说明**

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #20000 和#21000)
1	在允许的体积范围内按指示的细胞浓度制备样本。	1 x 10e8 个细胞/mL 0.5 - 8 mL
	向指定试管中加入样本。	14 mL (17 x 100 mm) 聚苯乙烯圆底试管 (如: Corning®, 产品号 #352057)
2	在 RoboSep™配备的空管中制备分选抗体混合物。 所需体积请见表 4。	将相同体积的组分 A 和组分 B 相混合 (见表 4)。 制备的抗体混合物在 2 - 8°C 下可稳定保存 4 周时间。
	孵育。	孵育 5 分钟 (RT)
3	选择操作流程。	Mouse CD19 Positive Selection II 18954v2
4	将 RapidSpheres™涡旋震荡。	30 秒
5	加载操作台。	根据屏幕界面的指示操作
	启动流程。	按绿色“Run”按钮
6	当运行完成后卸载操作台。取出装有已分选细胞的试管，并在所需缓冲液中重悬细胞。应确保从试管边缘收集细胞。	分选的细胞可立即应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

**表 4. RoboSep™分选抗体混合物的制备体积**

起始样本	组分 A	组分 B	分选抗体混合物 总体积
0.5 mL	62.5 µL	62.5 µL	125 µL
1 mL	75 µL	75 µL	150 µL
1.5 mL	87.5 µL	87.5 µL	175 µL
2 mL	100 µL	100 µL	200 µL
3 mL	125 µL	125 µL	250 µL
4 mL	150 µL	150 µL	300 µL
5 mL	175 µL	175 µL	350 µL
6 mL	200 µL	200 µL	400 µL
7 mL	225 µL	225 µL	450 µL
8 mL	250 µL	250 µL	500 µL

注意: RoboSep™需要额外 100 µL 的抗体混合物来确保正确运行 (相比于手动流程)。

## 提示及窍门

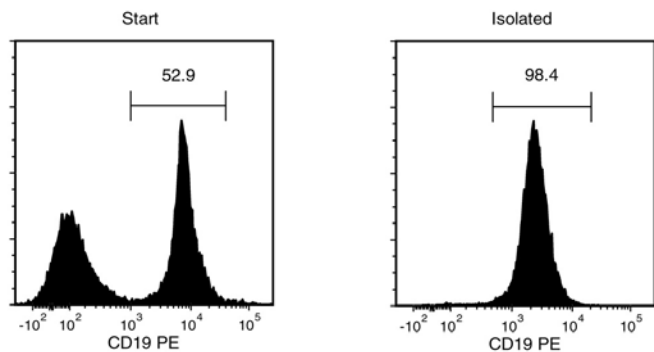
### 纯度检测

CD19 分选抗体混合物使用抗 CD19 抗体克隆 6D5。通过荧光染色并经流式分析进行纯度检测:

### 抗体克隆

- 抗小鼠 CD19 抗体, 克隆 1D3 (部分克隆)

数据



起始样本为小鼠脾细胞，分选组分中 CD19+ 的纯度通常通常为  $98.1 \pm 0.6\%$ （平均值  $\pm$  SD，对于紫色 EasySep™ 磁极）。

STEMCELL Technologies Inc. 的质量管理体系已经过 ISO 13485 医疗器械标准认证。

版权所有 © 2015 by STEMCELL Technologies Inc. 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、EasySep、RapidSpheres 和 RoboSep 均是 STEMCELL Technologies Inc. 的注册商标。其他注册商标为各自持有人的产权。STEMCELL 已作出一切合理的努力，以确保 STEMCELL 及其供应商所提供信息的正确性，因而对此类信息的准确性或完整性将不另作保证或陈述。