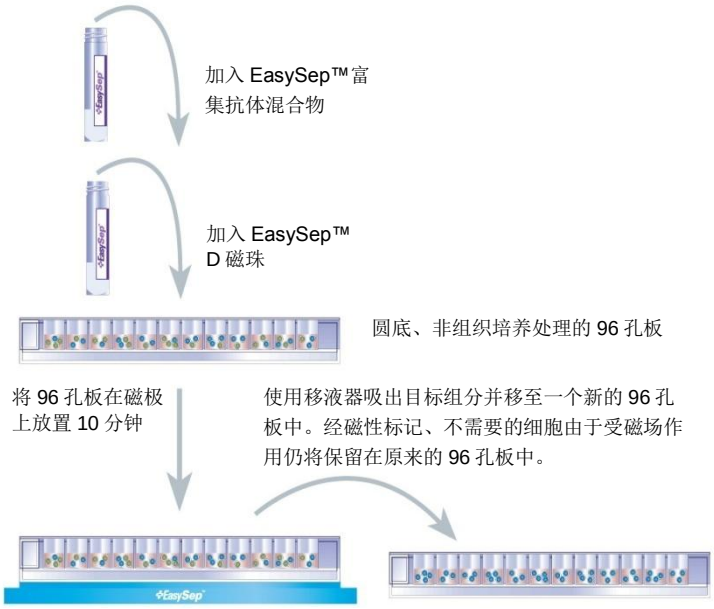
本产品说明书适用于“EASYPLATE”磁极（产品号 #18102）。如果使用其它 EASYSEP™磁极，请查看试剂盒包装内的产品说明书，或访问 WWW.STEMCELL.COM 查看相关信息。

“EASYPLATE” EASYSEP™操作流程图示



使用“EASYPLATE” EASYSEP™磁极（产品号 #18102）进行 EASYSEP™手动分选的操作流程

该操作流程适用于处理每孔 **50 µL-200 µL** 的样品（每孔可处理 $1x10^7$ 个细胞，或每块 96 孔板可处理 $9.6x10^8$ 个细胞）。对于体积小于 50 µL 的样品，请发邮件至 techsupport@stemcell.com，与 STEMCELL Technologies 公司的技术支持部门联系。

1. 在推荐的缓冲液（见“提示及窍门”部分）中制备浓度为$5x10^7$个细胞/mL的细胞悬液。细胞须置于圆底、非组织培养处理的96孔板中，以便平稳放置于“EasyPlate”磁极上（见“提示及窍门”部分）。
2. 对于**每 mL 细胞**，加入 **50 µL** 的 EasySep™人 B 细胞富集抗体混合物（例如：对于 200 µL 的细胞悬液，则加入 10 µL 的抗体混合物）。混合均匀，在室温下（15-25°C）孵育 **10 分钟**。
3. 将EasySep™ D磁珠涡旋震荡30秒钟，以确保磁珠均匀混悬，没有可见的聚集体。
4. 对于**每mL细胞**，加入**100 µL**的EasySep™ D磁珠（例如：对于200 µL的细胞悬液，则加入20 µL的磁珠）。混合均匀，在室温下（15-25°C）孵育**5分钟**。
5. 通过加入推荐的缓冲液使每孔的细胞悬液**总体积**达到**250 µL**。轻轻上下吹打每孔中的细胞悬液2-3次，以将其混合均匀。
6. 将96孔板放置于“EasyPlate” EasySep™磁极上，确保其被放置平稳。孵育**10分钟**。
7. 使用移液器小心吸出每孔中的细胞悬液，并移至一个新的96孔板中。***请勿倾倒***。经磁性标记、不需要的细胞由于受“EasyPlate” EasySep™磁极的磁场作用，仍将保留在原来的培养孔底部。在新的96孔板中，经负选富集到的细胞可立即用于下游应用。

仅供研究使用。不可用于治疗或诊断。

提示及窍门

所需设备：“EasyPlate” EasySep™磁极（产品号 #18102）。

推荐缓冲液：推荐使用RoboSep™缓冲液（产品号 #20104），或含2%胎牛血清（FBS，产品号 #07905）的PBS缓冲液，其中添加了1 mM乙二胺四乙酸（EDTA）。缓冲液中应不含Ca^{++}和Mg^{++}。

推荐的96孔板：“EasyPlate” EasySep™磁极用于放置一个96孔板（如：Costar，产品号 #3788；或BD Biosciences，产品号 #351177）。圆底、非组织培养处理的96孔板效果最佳。

如果使用其它类型的非组织培养的96孔板，应在使用前确保其可平稳放置于“EasyPlate” EasySep™磁极上。有些96孔板无法平放于磁极上，因此可能会导致分选失败。

制备细胞悬液

来自外周全血

使用密度梯度离心法从外周全血中制备单个核细胞悬液。**对于预先冻存的单个核细胞，我们推荐使用**浓度为 100 µg/mL 的**脱氧核糖核酸酶 I（DNase I）溶液（产品号 #07900）**，在标记和分离前于室温下（15-25°C）将细胞孵育至少 15 分钟。再用 30 µm 孔径的尼龙网过滤器对含有聚集体的悬液进行过滤，以使达到最佳效果。

来自外周血白细胞单采术样品（LEUKOPAK）

如果样本量较大（>150 mm），先在 500*xg* 下离心 10 分钟以浓缩 Leukopack 细胞。去除上清液，再用相当于 Leukopak 原来体积的 1/10 的推荐缓冲液重悬细胞（例如：对于 300 mL 的细胞悬液，则在 30 mL 的推荐缓冲液中重悬细胞）。对于小容量样本（150 mL 或以下），则直接向细胞悬液中添加氯化铵溶液（产品号 #07800/07850）。

1. 在 Leukopak 悬液中添加等体积的氯化铵溶液（例如：对于 5 mL 的 Leukopak 悬液，则添加 5 mL 的氯化铵溶液）。
2. 在冰上孵育 15 分钟。
3. 在室温下（15-25°C）以 500*xg* 离心 10 分钟。去除上清液。
4. 再在试管中加满推荐缓冲液以清洗细胞。在室温下（15-25°C）以 150*xg* 离心 10 分钟（关闭刹车）。小心去除上清液。
5. 重复一次或多次细胞清洗步骤，直到大部分血小板已被去除（上清液清透时即表明已达到该状态）。
6. 在推荐缓冲液中以推荐的细胞浓度重悬细胞。

仅供研究使用。不可用于治疗或诊断。