

## 全血CD138磁珠，人(92-01-0092)

### [组分]

人全血 **CD138** 磁珠：与单克隆抗人 CD138 抗体偶联的磁珠（同种型：小鼠 IgG1）

**[规格]** 2 mL，适用于 40 mL 人全血。

**[保存形式]** 人全血 CD138 磁珠储存在含有稳定剂和 0.05% 叠氮化钠的缓冲液中。

**[储存条件]** 2-8 °C 避光保存，请勿冻存。有效期见试剂外标签。

### [分选原理]

首先，用全血 CD138 磁珠对全血或骨髓样本中的 CD138+ 细胞进行磁性标记。然后，将细胞悬浮液置于分选柱上，该分选柱置于分选器的磁场中。磁性标记的 CD138+ 细胞被保留在柱内，未标记的细胞流出分选柱。从磁场中移除分选柱后，磁性标记的 CD138+ 细胞作为正选细胞部分被洗脱出来。

### [背景信息]

全血 CD138 磁珠用于直接从人全血或骨髓中快速正选 CD138 +细胞，从而最大限度地减少手动操作时间并将靶细胞的产量最大化。不需要包括密度梯度离心和红细胞裂解的样品制备。

CD138 抗原，也称为 syndecan-1，主要在骨髓中的正常和恶性浆细胞上表达。在健康供体的外周血中，约 50%的浆细胞表达该抗原。相反，初始 B 细胞，生发中心 B 细胞，记忆 B 细胞，T 细胞和单核细胞不表达 CD138。

## [试剂和仪器要求]

- 分离缓冲液： 配制含有 pH7.2PBS、0.5% 牛血清白蛋白（BSA）和 2mMEDTA 的溶液。将缓冲液置于 2-8 °C。使用前对缓冲液进行脱气处理，因为空气气泡可能会堵塞分选柱。
- ▲ 注：EDTA 可由其他补充剂替代，如抗凝柠檬酸葡萄糖配方- A（ACD-A）或柠檬酸磷酸葡萄糖（CPD）。BSA 可以用其他蛋白质代替，例如人血清白蛋白、人血清或胎牛血清。不建议使用含有  $Ca^{2+}$  或  $Mg^{2+}$  的缓冲液或培养基。
- 用于制备骨髓细胞的含 HEPES 缓冲液的细胞培养基（如 IMDM） ，添加 100 U/mL 的肝素。
- 滤网(100  $\mu$ m)，用于去除骨碎片和细胞团块。
- （可选）用于流式细胞分析的荧光偶联抗体，如 CD138-PE、CD45-FITC 或 CD19- APC。
- （可选）碘化丙啶溶液或 7-AAD，用于流式细胞仪排除死细胞。
- （可选）预分离过滤器（30  $\mu$ m） ，用于去除细胞团块。
- （可选）红细胞裂解液（10 $\times$ ）。

## [步骤]

### 一、全血准备

- ▲ 可使用 EDTA、肝素-EDTA、柠檬酸盐葡萄糖配方-A（ACD-A）或柠檬酸盐磷酸葡萄糖（CPD）等抗凝剂。在随后的分子生物学应用中，可使用 EDTA 作为抗凝剂。但是，替换 EDTA 会降低纯度和/或回收率。

▲ 为了获得最佳性能，在磁性标记前必须获得单细胞悬浮液。将细胞通过 30  $\mu\text{m}$  尼龙网（预分离过滤器（30  $\mu\text{m}$ ）），以去除可能会堵塞分选柱的细胞团块。使用前用缓冲液湿润过滤器。

1. 在含有适当抗凝剂的采血管中收集最多 15 mL 的全血。
2. 进行磁性标记。

## 二、骨髓细胞的制备

1. 用抽吸针从髂嵴上部或胸骨处抽取 2-10 mL 骨髓。
2. 将骨髓移入装有等体积 HEPES 缓冲细胞培养基的 50 mL 离心管中。
3. 通过细胞滤网（100  $\mu\text{m}$ ），以去除骨碎片或细胞团块。使用前用分离缓冲液浸湿过滤器。
4. 在不带刹车器的吊桶离心机以  $445\times g$  离心 10 分钟，温度  $20^{\circ}\text{C}$ 。
5. 用分离缓冲液重悬细胞颗粒至步骤 1 中所用的原始体积。
6. 进行磁性标记。

▲ 注：如果细胞不能在收获当天分离，请将细胞保存在  $4^{\circ}\text{C}$ 。

## 三、磁珠标记

▲ 快速工作，保持细胞低温，并使用预冷溶液，可以减少细胞的非特异性标记。

▲ 以下给出的磁性标记体积为 1 mL 抗凝全血或骨髓的体积。当使用较大体积时，请相应放大所有试剂体积和总体积（例如，2 mL 时，使用两倍的所有标示试剂体积和总体积）。使用体积低于 1 mL（最小体积 0.25 mL）时，应相应减少所有试剂体积和总体积。

▲ 在冰上工作可能需要增加孵育时间。较高的温度和/或较长的孵育时间可能导致非特异性细胞标记。

1. 每 1 mL 抗凝全血或骨髓中加入 50  $\mu$ L 全血 CD138 磁珠。
2. 混匀并在冰箱（2-8  $^{\circ}$ C）中孵育 15 分钟。
3. （可选）每 1 mL 全血加入 2-5 mL 分离缓冲液洗涤细胞，然后在室温下于无刹车器的吊桶离心机以 445 $\times$ g 离心 10 分钟。小心吸出上清液。不要搅动细胞团。保留一定量的上清液（约 1-2 毫米高）以避免细胞丢失。

加入一体积的分离缓冲液至总体积为 1 mL，重悬细胞团。

4. 进行细胞分选步骤。

#### 四、使用全血分选柱进行细胞分选

1. 将全血柱放入合适的分选器磁场中。
2. 用 3 mL 分离缓冲液冲洗柱子。
3. 将磁性标记的细胞悬浮液装载到准备好的全血柱上。收集含有未标记细胞的流出液。  
**▲ 注：**全血柱的储液器最多可容纳 7.5 毫升。大于 7.5 mL 的样本应等分加入柱中。
4. 用 2 $\times$ 2 mL 分离缓冲液清洗全血柱。收集通过的未标记细胞，与步骤 3 的流出液合并。  
**▲ 注：**一旦分选柱储液器排空了，立即加入等量的缓冲液进行洗涤。
5. 从分选器中取出全血柱，将其置于新的收集管中。
6. 将 4 mL 分离缓冲液移至全血柱上。将活塞推入全血柱，立即冲洗出磁性标记的细胞。
7. （可选）为提高磁性标记的细胞纯度，可将洗脱的部分富集到新的 xM 柱或 xL 柱上。
8. （可选）剩余的红细胞可用红细胞裂解液（10 $\times$ ）裂解。