

CD138分选磁珠，人(92-01-0042)

[组分]

人 CD138 磁珠：与抗人 CD138 单克隆抗体偶联的磁珠（同种型：小鼠 IgG1）

[规格] 2 mL，可分选 2×10^9 个细胞总量，多达 100 次分离。

[保存形式] 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 CD138 磁珠对 CD138+ 细胞进行磁性标记。然后，将细胞悬液装入置于分选器磁场的柱中。磁性标记的 CD138+ 细胞被保留在柱中，未标记的细胞贯穿其中。将柱从磁场中移出后，磁性标记的 CD138+ 细胞可作为正选细胞部分被洗脱出来。

如果需要非常高的纯度，在 CD138 磁珠进行阳性选择之前，我们建议先使用 CD20 磁珠标记去除 CD20+B 细胞。

[背景信息]

CD138 磁珠可用于从人外周血单个核细胞（PBMC）、骨髓或淋巴组织中分离浆细胞。CD138，也被称为 syndecan-1，在正常和恶性人类浆细胞上表达，通常被用作鉴定它们的通用标记。CD138 还表达在内皮细胞、胚胎间充质细胞、血管平滑肌细胞。在小鼠中，CD138 表达在浆细胞上，也表达在骨髓中的 B 细胞前体细胞上。

[试剂和仪器要求]

- 缓冲液： 配制含有 pH7.2 PBS、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。
- 分选柱和分离器：CD138 阳性细胞可以用 xM、xL 分选柱富集。强烈表达 CD138 抗原的细胞也可以用 xM、xL 分选柱去除。
- （可选）荧光偶联的抗体用于流式分析。
- （可选）PI 或 7-AAD 可以用于流式分析中排除死细胞。
- （可选）死细胞清除试剂盒用于死细胞的清除。
- （可选）预分离过滤器去除细胞团块。

[步骤]

1. 样本准备

在处理抗凝外周血或白膜层时，应使用密度梯度离心法分离外周血单个核细胞（PBMC）。

▲注：在密度梯度分离后除去血小板后，将细胞重悬于缓冲液中，在 $200\times g$ 下 20°C 离心 10-15 分钟。

小心抽吸上清。重复洗涤步骤。

当处理组织或溶血时，使用标准方法制备单细胞悬浮液。

▲注：死细胞可能与磁珠非特异性结合。为了去除死细胞，我们建议使用密度梯度离心或死细胞去除试剂盒。

2. 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。

▲ 下面给出的磁珠标记规模为 2×10^7 个细胞总量。当处理少于 2×10^7 个细胞时，使用与指示相同的试剂体积。当处理较高的细胞数时，相应地扩大所有试剂体积和总体积(例如，对于 4×10^7 总细胞，使用所有指示试剂体积和总体积的两倍体积)。

▲ 为了获得最佳性能，在磁标记之前获得单细胞悬浮液是很重要的。将细胞通过 $30 \mu\text{m}$ 尼龙网，去除可能堵塞分选柱的细胞团块。使用前用缓冲液湿润过滤器。

▲ 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。

▲ 据报道，正常浆细胞是 CD19+和 CD56-，而骨髓瘤细胞通常是 CD19-和 CD56+。为了区分正常和恶性细胞，细胞可以用 CD19 和 CD56 特异性抗体染色。

▲ 固定和通透化后，CD138+细胞也可以对细胞内抗原进行复染，例如免疫球蛋白轻链。

1. 细胞计数。

2. $300 \times g$ 离心 10 分钟。去除上清。

3. 每 2×10^7 个细胞总量使用 $80 \mu\text{L}$ 缓冲液重悬。

4. 每 2×10^7 个细胞总量添加 $20 \mu\text{L}$ CD138 磁珠。

5. 充分混匀， $2-8^\circ\text{C}$ 孵育 15 分钟。

6. (可选) 添加染色抗体, 例如: 10 μ L CD138-PE 2-8 $^{\circ}$ C 避光孵育 5 分钟.
 7. 每 2×10^7 个细胞加入 1 - 2 mL 缓冲液洗涤细胞, 300 $\times$ g 离心 10 分钟, 去上清。
 8. 用 500 μ L 缓冲液重悬多达 10^8 个细胞。
- ▲ 注: 细胞数量增多需相应地增加缓冲液的体积。
9. 进行细胞分选步骤。

3. 细胞分选

- ▲ 根据总细胞数和 CD138+细胞数选择合适的分选柱和分选器。

xM 或 xL 分选柱进行细胞分选

1. 将分选柱置于相对应的分选器中。
2. 用适当体积的缓冲液润洗分选柱:
xM: 500 μ L xL: 3 mL
3. 将细胞悬液转移至分选柱中。
4. 结合磁珠的细胞会被吸附到分选柱上, 没有结合的细胞会顺着液体流下来。加适量的缓冲液, 待液体全部流尽, 再加入适量缓冲液, 一共洗 3 次。收集总流出物, 这是未标记的细胞。

xM: 3 $\times$ 500 μ L xL: 3 $\times$ 3 mL

5. 将分选柱从分选器中取出, 并将其放在合适的收集管上。
6. 加适量的缓冲液到分选柱中, 迅速用塞子推下, 得到的就是目的细胞。

xM: 1 mL xL: 5 mL

- ▲ (可选) 为了提高 CD138+细胞的纯度, 洗脱的部分可以在第二个 xM 或 xL 柱上富集。用新的分选柱重复步骤 1 至 6 中描述的磁分选过程。

