

EasySep™ 人髓样 DC 富集试剂盒

可处理 2×10^9 个细胞

产品号 #19061
#19061 RoboSep™

负选

文档号 #1000029445 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

通过免疫磁珠负选，从新鲜的人外周血单个核细胞（PBMCs）、白膜层或裂解的白细胞单采术样本中分离出无磁珠标记和高纯度的髓样树突状细胞（mDCs）。

- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- 纯度高达90%
- 获得不带标记的活细胞

该试剂盒通过使用识别细胞特异性表面标志物的抗体来去除非mDCs，包括浆细胞样树突状细胞（pDCs）。非目的细胞用抗体和磁珠标记，并通过EasySep™磁极进行无柱分选。目的细胞被简单地倾倒入。分选后的细胞可立即用于下游应用，例如流式细胞术、培养或DNA/RNA提取。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ 人髓样DC富集抗体混合组分A	19061C.1	2 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ 人DC富集抗体混合组分B	19060C	2 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ D Magnetic Particles磁珠	19250	5 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在TBS中的磁珠悬浮液。
抗人CD32 (Fc gamma RII) 阻断剂，用于负选	14551C	1 x 0.8 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的单克隆抗体混合物。

PBS - 磷酸盐缓冲液；TBS - TRIS缓冲盐溶液

试剂盒组分可在室温（15 - 25°C）下运输，但应按照上述说明进行储存。

样本制备

有关可用的新鲜和冻存样本，请参见 www.stemcell.com/primarycells。

外周血

通过在密度梯度离心液（如Lymphoprep™，产品号 #18060）上离心，从全血中制备外周血单个核细胞（PBMC）悬液。

如需更快地制备PBMC，可以使用SepMate™ RUO（产品号 #86450/86415）或SepMate™ IVD*（产品号 #85450/85415）细胞分选管。注：强烈建议使用新鲜全血。使用储存一天以上的血液会导致mDC纯度和回收率降低。

制备完成后，将细胞以 5×10^7 细胞/mL 的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

* SepMate™ (IVD) 在特定地区作为体外诊断设备使用，其预期用途是通过密度梯度离心法从全血或骨髓中分离单个核细胞（MNCs）。SepMate™在符合21 CFR 820标准的cGMP质量管理体系下生产。在其他所有地区，SepMate™仅限于研究用途（RUO）。

裂解的白细胞单采术样本

1. 将4份氯化铵溶液（产品号 #07800）添加到1份白细胞单采术样本中。

注：如果使用样本体积较大（> 20 mL），请首先以300 x g 离心10分钟来浓缩白细胞单采术样本。去除上清液，并用原样本体积的1/10的推荐缓冲液重悬细胞（例如，对于30 mL 细胞样本，重悬于3 mL 推荐缓冲液中，并添加12 mL 氯化铵溶液）。对于小体积样本（≤ 20 mL），将氯化铵溶液直接添加到白细胞单采术样本中。

2. 冰上孵育15分钟。

3. 使用推荐的缓冲液加满试管以清洗细胞。在室温（15 - 25°C）下以300 x g离心10分钟。去除上清液。

4. 可选（去除血小板）：

a. 使用推荐的缓冲液加满试管以清洗细胞。在室温下，关闭刹车，将细胞以120 x g离心10分钟。小心地去除上清液。

b. 重复步骤4a一次或多次，直至去除大部分血小板（标志是上清液变澄清）。

5. 将细胞以 5×10^7 细胞/mL 的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

推荐缓冲液

EasySep™缓冲液（产品号 #20144），RoboSep™缓冲液（产品号 #20104）；或者含2%胎牛血清（FBS）和1 mM EDTA的PBS。缓冲液应该不含Ca⁺⁺和Mg⁺⁺。

使用指南 – EasySep™手动实验流程

请参阅第1页了解样本制备和推荐缓冲液。有关每种磁极的详细使用方法，请参阅表1。

表1. EasySep™人髓样DC富集试剂盒操作流程

		EASYSEPTM 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy”™ (产品号 #18001)
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 1 - 8.5 mL
	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	在样本中加入FcR阻断剂。 注意: 阻断剂非必须添加, 但强烈推荐添加。	15 µL/mL 样本	15 µL/mL 样本
3	将髓样DC富集抗体混合物组分A添加到样本中。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
4	将DC富集抗体混合物组分B添加到样本中。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育30分钟	室温孵育30分钟
5	涡旋磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态	30秒	30秒
6	将磁珠加入到样本中。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
7	添加推荐的缓冲液, 将样本定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> 若样本 ≤ 4 mL, 定容至5 mL 若样本 > 4 mL, 定容至10 mL
	将试管 (不加盖) 放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
8	拿起磁极, 以一个连续的动作翻转磁极和试管*, 倾向上清液至一个新的试管中。	使用新的5 mL 流式管	使用新的14 mL 流式管
9	从磁极中取出流式管, 然后将新流式管 (不加盖) 放入磁极中孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
10	拿起磁极, 以一个连续的动作翻转磁极和试管*, 倾向上清液至一个新的试管中。	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

*保持磁极和流式管倒置2 - 3秒, 然后恢复直立。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

使用指南 – RoboSep™全自动实验流程

请参阅第1页和第2页了解样本制备和推荐缓冲液。有关RoboSep™的详细使用说明，请参阅表2。

表2.RoboSep™人髓样DC富集试剂盒操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 8.5 mL ‡
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	在样本中加入FcR阻断剂。 注意：阻断剂非必须添加，但强烈推荐添加。	15 µL/mL 样本
3	将DC富集抗体混合物组分B添加到样本中。 注意：不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本
4	选择实验程序。	人mDC负选19061
5	涡旋磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态	30秒
6	加载转盘。	根据屏幕上的提示操作 注：该实验程序单次运行需要在转盘上放置两管EasySep™D Magnetic Particles； 一瓶放在▲（三角形）插槽中，一瓶放在●（圆形）插槽中
	启动实验程序	按下绿色的“Run (运行)”按钮
7	运行完成后，卸载转盘。	分选后的细胞可立即用于下游应用

‡ 如果起始样本体积少于1mL，请通过info.cn@stemcell.com 联系我们，申请一管额外的EasySep™ D Magnetic Particles。

注意事项和提示

纯度评估

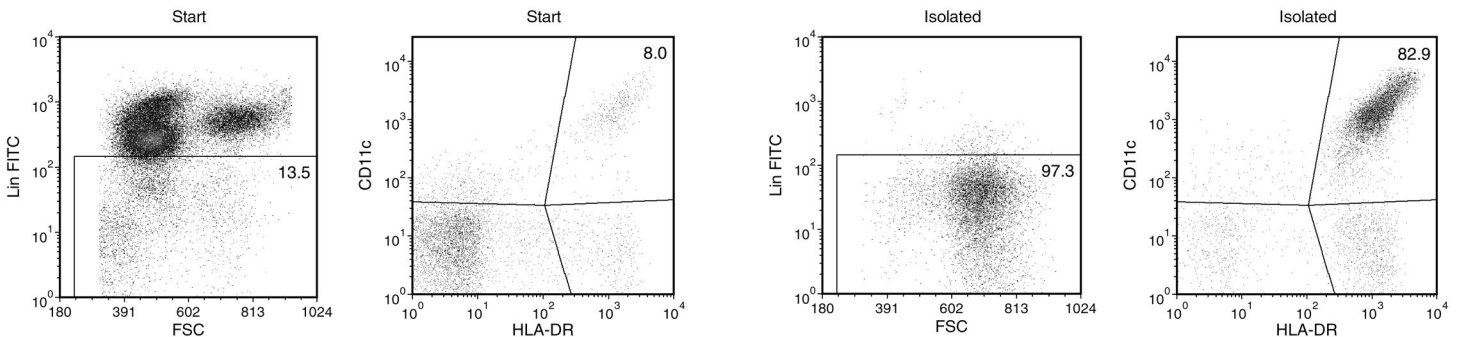
mDC以谱系阴性（CD3、CD14、CD19、CD20、CD34、CD56）、HLA-DR阳性和CD11c阳性为特征。要通过流式细胞术评估mDCs的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD11c抗体
- 抗人HLA-DR抗体，克隆LN3（产品号 #60164），以及
- 抗人谱系特异性抗体（见下方）

对于谱系特异性抗原标记，请使用以下荧光偶联抗体：

- 抗人CD3抗体，克隆UCHT1（产品号 #60011），以及
- 抗人CD14抗体，克隆号M5E2（产品号 #60004），以及
- 抗人CD19抗体，克隆号HIB19（产品号 #60005），以及
- 抗人CD20抗体，克隆2H7（产品号 #60008），以及
- 抗人CD34抗体，克隆581（产品号 #60013），以及
- 抗人CD56（NCAM）抗体，克隆HCD56（产品号 #60021）

实验数据



起始样本为含0.6 - 1.8% mDCs的新鲜外周血有核细胞，富集后的mDCs含量通常在50 - 90%*，具体取决于mDC表型，即谱系阴性（CD3、CD14、CD19、CD20、CD34、CD56）、HLA-DR阳性和CD11c阳性。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为1.1%和80.7%。

*如果起始样本的mDC含量 < 1.25%，则富集后的mDC含量可能 < 80%。

产品仅供研究使用。除非另行说明，不可用于人或动物的诊断或治疗。若想了解更多关于产品质量和合规的信息，请访问WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE。

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2025。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、EasyPlate、EasySep、RoboSep和SepMate是STEMCELL Technologies Inc. 的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。以Lymphoprep品牌销售的产品也是由Serumwerk Bernburg AG生产的。所有商标均为各自所有者所有。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。