

EasySep™人浆细胞样 DC 分选试剂盒

可处理 2×10^9 细胞

产品号 #17977

负选

文档号 #1000029453 | 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）或白细胞单采样本中分离出无磁珠标记和高纯度的浆细胞样树突状细胞（pDCs）。

- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- 纯度高达97%
- 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pDCs，包括髓样树突状细胞（mDCs）。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™人浆细胞样DC分选抗体混合物组分A	17977CA	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™人浆细胞样DC分选抗体混合物组分B	17977CB	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™ Dextran RapidSpheres™ 50103磁珠	50103	4 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在水中的磁珠悬浮液。
抗人CD32 (Fc gamma RII) 阻断剂	14551C	2 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

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）细胞分离管。

注：强烈建议使用新鲜全血。使用储存一天以上的血样会导致pDC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）。

白细胞单采样本

通过添加等体积的推荐缓冲液或含有2%胎牛血清（FBS）的PBS来清洗外周血白细胞单采样本。在室温（15-25°C）下，500 x g，离心10分钟。如果需要裂解红细胞（RBC），请使用氯化铵溶液（产品号 #07800）进行裂解。如果需要去除血小板，请在关闭刹车的情况下以120 x g离心10分钟。去除上清液，并将细胞以 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和表2。

表1.EasySep™人浆细胞样DC分选试剂盒操作流程

		EASYSEPT™ 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 0.25 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 8 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。†	30 µL/mL 样本	30 µL/mL 样本
3	将浆细胞样DC分选抗体混合物组分A添加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
4	将浆细胞样DC分选抗体混合物组分B添加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
5	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
6	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育1分钟	室温孵育1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3分钟	室温孵育3分钟
8	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，将富集细胞悬液倾倒入一个新的试管中。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管
9	从磁极中取出试管，然后将新试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次分选。	室温孵育1分钟	室温孵育1分钟
10	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，将富集细胞悬液倾倒入一个新的试管中。	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)

†添加抗人CD32 (Fc gamma RII) 阻断剂可能会导致下游无法通过交联CD32分子来激活经由这些受体的信号传导。如有必要，可以不添加FcR阻断剂。

*保持磁极和试管倒置 2 - 3秒，然后翻转回直立位置。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表2. EasySep™人浆细胞样DC分选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEPTM 磁极		
		 EasyEights™ (产品号 #18103) 	Easy 50 (产品号 #18002) 	
		5 mL 流式管	14 mL 流式管	
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 0.5 - 8.5 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 5 - 35 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)	50 mL (30 x 115 mm) 锥形管 (如: 产品号 #38010)
2	在样本中加入FcR阻断剂。†	30 µL/mL 样本	30 µL/mL 样本	30 µL/mL 样本
3	将浆细胞样DC分选抗体混合物组分A添加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
4	将浆细胞样DC分选抗体混合物组分B添加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
5	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒	30秒
6	将RapidSpheres™磁珠加到样本中混匀。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育1分钟	室温孵育1分钟	室温孵育5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	· 若样本 ≤ 4 mL, 定容至5 mL · 若样本 > 4 mL, 定容至10 mL	· 若样本 ≤ 20 mL, 定容至25 mL · 若样本 > 20 mL, 定容至50 mL
	将试管 (不加盖) 放入磁极中并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
8	小心地吸出** (切勿倾倒) 上清液至一个新的流式管。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管	使用新的50 mL锥形管
9	从磁极中取出试管，然后将新试管 (不加盖) 放入磁极中。孵育以进行第二次分选。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
10	小心地吸出** (切勿倾倒) 上清液至一个新的流式管。	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	使用新的50 mL锥形管
11	从磁极中取出流式管，然后将新流式管 (不加盖) 放入磁极中孵育以进行第三次分选。	---	---	室温孵育5分钟
12	小心地吸出** (切勿倾倒) 上清液至一个新的流式管。	---	---	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)


†添加抗人CD32 (Fc gamma RII) 阻断剂可能会导致下游无法通过交联CD32分子来激活经由这些受体的信号传导。如有必要，可以不添加FcR阻断剂。

** 使用一个移液管一次收集所有富集的细胞悬液 (对于EasyEights™ 5 mL流式管，使用一个2 mL血清移液管 [产品号 #38002]; 对于EasyEights™ 14 mL流式管，使用一个10 mL血清移液管 [产品号 #38004]) 。

使用指南 – RoboSep™全自动实验流程

请参阅第1页了解样本制备和推荐缓冲液。有关RoboSep™的详细使用说明，请参阅表3。

表 3. RoboSep™人浆细胞样DC分选试剂盒操作流程

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 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。‡	30 µL/mL 样本	
3	选择实验程序。	人浆细胞样DC负选 17977	
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	
5	加载转盘。	根据屏幕上的提示操作	
	启动实验程序。	按下绿色的“Run (运行)”按钮	
6	运行完成后，卸载转盘。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

‡添加抗人CD32 (Fc gamma RII) 阻断剂可能会导致下游无法通过交联CD32分子来激活经由这些受体的信号传导。如有必要，可以不添加FcR阻断剂。

注意事项和提示

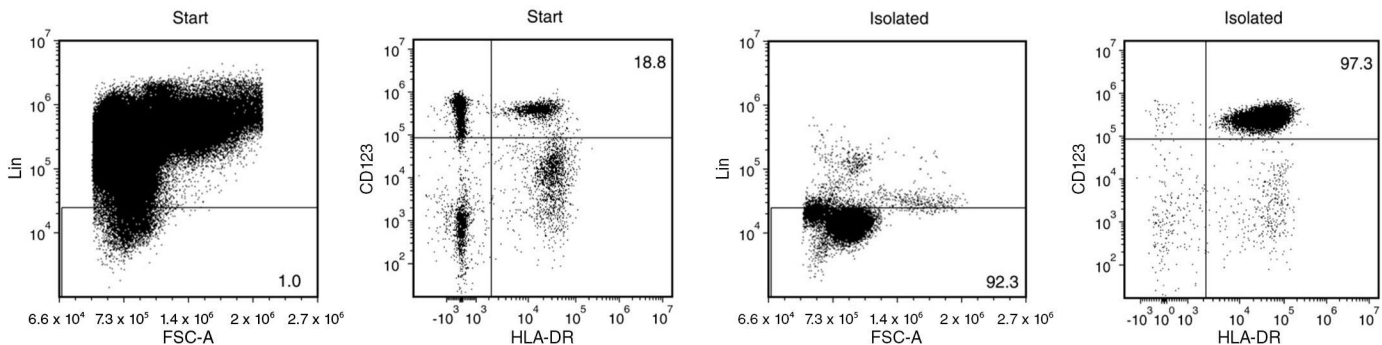
纯度评估

pDCs以谱系 (CD3、CD14、CD16、CD19、CD20、CD34、CD56) 阴性、HLA-DR阳性和CD123 (IL-3R α) 阳性为特征。要通过流式细胞术评估pDCs的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD3抗体，克隆SK7 (产品号 #60127)，以及
- 抗人CD14抗体，克隆M5E2 (产品号 #60004)，以及
- 抗人CD16抗体，克隆3G8 (产品号 #60041)，以及
- 抗人CD19抗体，克隆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CD45抗体，克隆HI30 (产品号 #60018)，以及
- 抗人CD56 (NCAM) 抗体，克隆HCD56 (产品号 #60021)，以及
- 抗人HLA-DR抗体，克隆LN3 (产品号 #60164)，以及
- 抗人CD123 (IL-3R α) 抗体，克隆6H6 (产品号 #60110)

注：如有必要，请加入活性检测染料（例如Propidium Iodide (PI) [产品号 #75002] 或 7-AAD [7-Aminoactinomycin D; 产品号 #75001]）。

实验数据



起始样本为白细胞单采术样本，分选后的pDC (Lin-HLA-DR+CD123+) 含量通常为90 ± 5.3% (平均值 ± 标准差，使用银色“Big Easy”EasySep™磁板)。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为0.2%和89.8%。

STEMCELL Technologies Inc.的质量管理体系已经过ISO 13485认证。产品仅供研究使用。除非另有说明，不可用于人或动物的诊断或治疗。

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2025。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies及其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasyEights、EasySep、RapidSpheres、RoboSep、和SepMate均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。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。