

# EasySep™人 Pan-DC 预富集试剂盒

可处理  $1 \times 10^9$  个细胞

产品号 #19251

#19251RF RoboSep™

负选

文档号 #1000029470 | 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，从新鲜或冻存的人外周血单个核细胞（PBMCs）中预富集不带标记的树突状细胞（包括髓样和浆细胞样树突状细胞；DCs）。

- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- 纯度高达80%
- 获得不带标记的活细胞

该试剂盒通过使用识别细胞表面特异性标志物的抗体来去除非DCs。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Pan-DC 预富集抗体混合物组分A	19251C.2	1 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 预富集抗体混合物组分B	19060C	1 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	2 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

‡ 若您使用的是Easy 50 EasySep™磁极，请通过info.cn@stemcell.com联系我们，申请额外的3管EasySep™ D Magnetic Particles。

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。

如果使用冻存的PBMCs，请使用含20%胎牛血清（FBS）和1 mM EDTA的50 mL PBS复苏不超过  $5 \times 10^8$  个细胞。200 x g，离心10分钟。小心去除上清液，并将细胞重悬于推荐的缓冲液中。再以200 x g离心10分钟，小心去除上清液。不建议使用DNase I处理细胞以备分选。

制备完成后，将细胞以  $5 \times 10^7$  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）。

## 推荐缓冲液

EasySep™ 缓冲液（产品号 #20144）、RoboSep™ 缓冲液（产品号 #20104）或含有2% 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 Pan-DC 预富集试剂盒实验流程

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 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.25 - 2 mL	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.5 - 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。§	30 µL/mL 样本	30 µL/mL 样本
3	将Pan-DC预富集抗体混合物组分A添加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
4	将DC富集抗体混合物组分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	· 若样本 < 2 mL，定容至5 mL · 若样本 ≥ 2 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*， 倾倒入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
可选：额外分选步骤。 注意：可以提高细胞纯度，但可能会降低细胞回收率。进行额外分选步骤将 需要额外的磁珠。请联系我们以申请更多磁珠。		---	---
9	涡旋磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
10	将磁珠加入到样本中。	100 µL	100 µL
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
11	从磁极中取出流式管，然后将新流式管（不加盖） 放入磁极。中孵育以进行第二次分	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
12	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*， 倾倒入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
13	重复以上步骤。	步骤11和12（总共2次5分钟的细胞分选）。 分离的细胞可直接用于下游应用	步骤11和12（总共2次5分钟的细胞分选）。 分离的细胞可直接用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

§ 添加抗人CD32 (Fc gamma RI) 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 Pan-DC 预富集试剂盒实验流程

步骤	说明	Easy 50 (产品号 #18002)	
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 1 - 35 mL ‡	
	将样本添加到所需的试管中。	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	
3	将Pan-DC预富集抗体混合物组分A添加到样本中。	50 µL/mL 样本	
4	将DC富集抗体混合物组分B添加到样本中。	50 µL/mL 样本	
	混匀并孵育。	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	
6	将磁珠加入到样本中。	250 µL/mL 样本	
	混匀并孵育。	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。	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 若样本 &lt; 5 mL, 定容至10 mL</li> <li>· 若样本 ≥ 5 - 10 mL, 定容至20 mL</li> <li>· 若样本 &gt; 10 - 15 mL, 定容至30 mL</li> <li>· 若样本 &gt; 15 - 20 mL, 定容至40 mL</li> <li>· 若样本 &gt; 20 mL, 定容至50 mL</li> </ul>	
	将试管 (不加盖) 放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	
8	小心地吸出** (切勿倾倒) 富集的细胞悬液至一个新的试管。	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5分钟	
10	小心地吸出** (切勿倾倒) 富集的细胞悬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)

‡ 若您使用的是Easy 50 EasySep™磁极，请通过[info.cn@stemcell.com](mailto:info.cn@stemcell.com)联系我们，申请3管额外的EasySep™ D Magnetic Particles。


§ 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。

\*\* 使用单个移液管一次性收集全部上清液。

## 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 Pan-DC 预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 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.5 - 6.5 mL	
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38008)	
2	在样本中加入FcR阻断剂。§	30 µL/mL 样本	
3	将DC富集抗体混合物组分B添加到样本中。	50 µL/mL 样本	
4	选择实验程序。	人Pan-DC 负选19251 - 高回收率	
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	
	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	

§ 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。

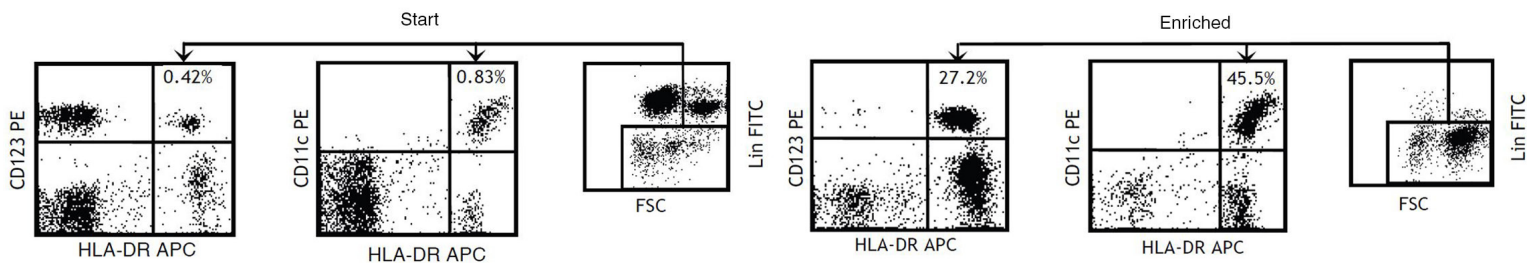
## 注意事项和提示

### 纯度评估

DC的表型为谱系标志物 (CD14、CD16、CD20、CD56、TCRab) 阴性、HLA-DR+CD123+或谱系标志物 (CD14、CD16、CD20、CD56、TCRab) 阴性、HLA-DR+CD11c+。要通过流式细胞术评估pan-DC的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 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CD20抗体，克隆2H7 (产品号 #60008)，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TCR alpha/beta抗体，以及
- 抗人CD123 (IL-3Ra) 抗体、克隆 6H6 (产品号 #60110) 或抗人CD11c抗体

## 实验数据



起始样本为PBMC，富集后的树突状细胞含量 (Lin-/HLA-DR+/CD123+或CD11c+) 通常在40 - 80%范围内。在以上示例中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为1.25%和72.7%。

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](http://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 & Design、STEMCELL Shield Design、Scientists Helping Scientifics、EasySep、RoboSep和SepMate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。