

EasySep™人浆细胞样 DC 富集试剂盒

可处理 2×10^9 个细胞

产品号 #19062

产品号 #19062RF RoboSep™

负选

文档号 #1000029471 | 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) 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富集抗体混合物组分 A	19062C.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富集抗体混合物组分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	8 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	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; 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2瓶额外的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。

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)。

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 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 0.25 - 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。	200 µL/mL 样本	200 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 ≤ 2 mL，定容至3.5mL ●若样本 > 2 - 5 mL，定容至6.5mL ●若样本 > 5 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
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	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*， 倾倒入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)

§ 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 富集试剂盒操作流程

		EASYSEP™ 磁极
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 ⁷ 细胞/mL 最多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	将浆细胞样DC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"> ●若样本 < 5 mL, 定容至10 mL ●若样本 ≥ 5 - 10 mL, 定容至20 mL ●若样本 > 10 - 15 mL, 定容至30 mL ●若样本 > 15 - 20 mL, 定容至40 mL ●若样本 > 20 mL, 定容至 50 mL
	将流式管 (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试管。	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联系我们，申请2瓶额外的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™人浆细胞样 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 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	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。	<ul style="list-style-type: none"> ● 人pDC富集 19062 - 小体积 (0.5 - 2.0 mL) ● 人pDC富集 19062 - 大体积 (2.1 - 5.0 mL) ● 人pDC富集 19062 - 超大体积 (5.1 - 8.0 mL) 	
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	

§ 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。

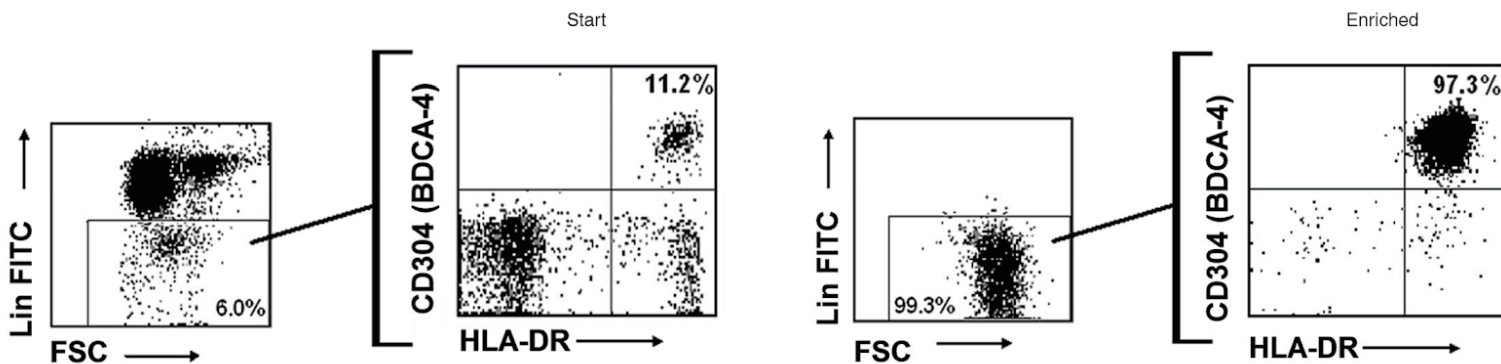
注意事项和提示

纯度评估

pDCs以谱系阴性 (CD3, CD14, CD16, CD19, CD20, CD34, CD56)、HLA-DR阳性和CD304 (BDCA-4) 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UCHT1 (产品号 #60011)，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CD304 (BDCA-4) 抗体

实验数据



起始样本为含0.2 - 0.9% pDC的PBMC，富集后的pDC含量 (Lin⁻/HLA-DR⁺/BDCA-4⁺) 通常在87 - 97%范围内。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为0.67%和96.6%。

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 & 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。