

EasySep™小鼠 CD11c 正选试剂盒



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

可处理 2×10^9 个细胞

产品号 #18780, #18780RF RoboSep™
#18781, #18781RF RoboSep™ 包含 10 x 4 mL 脾脏解离液

正选

文档号 #10000032221 | 版本01

产品介绍

通过免疫磁珠正选从小鼠脾脏或培养的骨髓细胞中分离高纯度的CD11c+细胞。当使用其它类型组织来源的单细胞悬液时, 该试剂盒可能需要优化。

- 操作简单、快捷, 且无需分离柱
- 纯度高达95%
- 分选后的细胞无荧光标记

该试剂盒通过识别CD11c表面标志物的抗体来正选CD11c+细胞。目的细胞用抗体和磁珠标记, 并通过 EasySep™ 磁极进行无柱分选。非目的细胞通过简单倾倒弃去, 而目的细胞则保留在试管中。分选后的细胞可立即用于下游应用, 例如流式细胞术、培养以及基于细胞的实验。

包含组分

脾脏解离试剂作为产品号 #18781的一部分出售, 也可单独购买。

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™小鼠CD11c正选试剂盒II 组分A	18780CA	1 x 0.5 mL	2 - 8°C 储存, 勿冷冻	具体效期请见标签	保存在含0.1% BSA的PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™小鼠CD11c正选试剂盒II 组分B	18780CB	1 x 0.5 mL	2 - 8°C 储存, 勿冷冻	具体效期请见标签	保存在含0.1% BSA的PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100磁珠	50100	2 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。
EasySep™小鼠FcR阻断剂	18731	3 x 0.5 mL	2 - 8°C 储存, 勿冷冻	具体效期请见标签	保存在含0.1% BSA和< 0.1% 叠氮化钠的PBS中的单克隆抗体混合物。
RoboSep™空管	27401	1	不适用	不适用	不适用
脾脏解离液	07915	10 x 4 mL	-20°C 储存	具体效期请见标签	含有胶原酶IV、DNase、FBS和 RPMI培养基。

BSA - 牛血清白蛋白; FBS - 胎牛血清; 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。

其它试剂稳定性信息

组分名称	储存方式	效期
分选抗体混合物 (组分A + 组分B的混合物)	2 - 8°C 储存, 勿冷冻	可存放不超过2周。存放时间请勿超过各个组分标签上的效期。

样本制备

脾脏

使用脾脏解离液（产品号 #07915）。有关使用脾脏解离液的更多信息，请参阅适用的产品说明书（文档号 #1000000374）。

1. 将切碎的脾脏在脾脏解离液中于室温（15 - 25°C）下孵育30分钟。
2. 将3cc注射器（产品号 #28230）连接18G针头，将脾脏碎片轻轻地推过注射器数次，以获得均匀的悬液。
3. 将所有悬液通过预润湿的70 μm 细胞滤筛过滤入50 mL 锥形管中。
4. 用10 mL含有2% FBS（不含EDTA）的PBS（例如产品号 #07905）冲洗空的脾脏解离液试管和滤网，然后添加到50mL锥形管中。
5. 将50 mL锥形管以300 x g离心10分钟，并弃去上清液。
6. 将每个脾脏的细胞沉淀重悬在约0.5 mL含2%FBS（不含 EDTA）的PBS中。
7. 加入DNase I溶液（产品号 #07900）至终浓度100 μg/mL，室温（15 - 25°C）下孵育10分钟。
8. 计数细胞并以 1×10^8 有核细胞/mL重悬于推荐缓冲液（含有1 mM EDTA）中。制备用于分选的样本时，不建议使用氯化铵处理样本。

骨髓

如需分选扩增培养后的骨髓来源树突状细胞，请通过info.cn@stemcell.com联系我们获取实验方法。

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2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™小鼠 CD11c 正选试剂盒II操作流程

		EASYSEP™ 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。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 1 - 4 mL
2	在样本中加入FcR阻断剂。	60 µL/mL 样本	60 µL/mL 样本
3	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)
4	在试管中制备分选抗体混合物。对于每1 mL样本，需制备50 µL抗体混合物 (25 µL组分A + 25 µL组分B)。	将等体积的组分A和组分B混合。 分选抗体混合物可在2 - 8°C下稳定存放不超过2周。	
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
5	在样本中加入分选抗体混合物。 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5分钟	室温孵育5分钟
6	涡旋磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
7	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	40 µL/mL 样本	60 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
8	添加推荐缓冲液，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 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3分钟	室温孵育3分钟
9	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*， 倾倒下清液至一个新的试管中。	弃去上清液	弃去上清液
10	重复以上步骤。	重复三次步骤8和9 (总共进行4次3分钟的分选)	重复三次步骤8和9 (总共进行4次3分钟的分选)
11	将细胞重悬于所需培养基中。 请确保从试管壁上收集细胞。	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。

表2.EasySep™小鼠 CD11c 正选试剂盒II操作流程

步骤	说明	EASYSEPTM磁极	
		EasyEights™ (产品号#18103)	
		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。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 1 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 1 - 5 mL
2	在样本中加入FcR阻断剂。	60 µL/mL 样本	60 µL/mL 样本
3	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)
4	在试管中制备分选抗体混合物。对于每1 mL样本，需制备50 µL抗体混合物 (25 µL组分A + 25 µL组分B)。	将等体积的组分A和组分B混合。 分选抗体混合物可在2 - 8°C下稳定存放不超过4周。	
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
5	在样本中加入分选抗体混合物。 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5分钟	室温孵育5分钟
6	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
7	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	60 µL/mL 样本	60 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
8	添加推荐缓冲液，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 · 若样品 ≥ 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10分钟	室温孵育10分钟
9	小心地吸取**（切勿倾倒）上清液。 从磁极上取下试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液
10	添加推荐缓冲液，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 · 若样品 ≥ 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
11	小心地吸取**（切勿倾倒）上清液。 从磁极上取下试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液
12	重复以上步骤。	步骤10和11 (总共进行1次10分钟和2次5分钟的分选)	步骤10和11 (总共进行1次10分钟和2次5分钟的分选)
13	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	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT- 室温 (15-25°C)

** 使用一个移液管一次收集所有的上清液 (例如, 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3。

表3. RoboSep™小鼠 CD11c 正选试剂盒II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。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 4 mL	
2	在样本中加入FcR阻断剂。	60 µL/mL 样本	
3	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)	
4	在提供的RoboSep™空管中制备分选抗体混合物。 请参阅表4了解所需的体积。	混合等体积的组分A和组分B (参见表4)。 分选抗体混合物可在2 - 8°C下稳定存放不超过2周。	
	孵育。	室温孵育5分钟	
5	选择实验程序。	小鼠CD11c正选II 18780v2	
6	涡旋磁珠。注意：磁珠应呈均匀分散状态	30秒	
7	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	
8	运行完成后，卸载转盘。取出含有目的细胞的试管。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

RT- 室温 (15 - 25°C)

表4. 制备RoboSep™分选抗体混合物

起始样本	组分A	组分B	分选抗体混合物 总体积
0.5 mL	62.5 µL	62.5 µL	125 µL
1 mL	75 µL	75 µL	150 µL
1.5 mL	87.5 µL	87.5 µL	175 µL
2 mL	100 µL	100 µL	200 µL
3 mL	125 µL	125 µL	250 µL
4 mL	150 µL	150 µL	300 µL

注：RoboSep™全自动分选需要比手动分选操作流程多制备100 µL 分选抗体混合物才能正常运行。

注意事项和提示

纯度评估

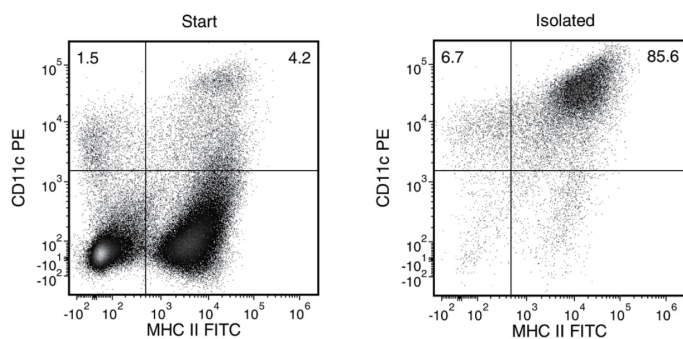
EasySep™小鼠CD11c正选抗体混合物使用的CD11c抗体克隆会部分阻断我们已知的大部分用于流式细胞术评估纯度的CD11c抗体克隆。对于通过流式细胞术评估CD11c+细胞的纯度，请使用以下方法：

- 在加入分选抗体混合物后，立即加入浓度为0.4 µg/mL的荧光抗小鼠CD11c抗体，克隆N418（产品号 #60002）。这种方法可以标记样本中全部的阳性细胞。

还可以使用以下方法之一：

- 使用荧光二抗，例如山羊抗仓鼠 IgG (H+L) 抗体。
- 使用抗葡聚糖抗体，Clone DX1（产品号 #60026），该抗体可以识别EasySep™ Dextran RapidSpheres™上的葡聚糖。
- 可以使用适合您目的细胞类型的替代标志物（如适用）。

实验数据



起始样本为小鼠脾细胞，分选后的CD11c+细胞含量通常为 $86.8 \pm 9.7\%$ （以单个活细胞设门，平均值 \pm 标准差，使用紫色EasySep™磁极）。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为5.7%和92.3%。

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及其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasySep和RoboSep均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。所有商标为各自所有者所有。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，但对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。