

EasySep™小鼠造血祖细胞分选试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #19856
#19856RF RoboSep™

负选
文档号 #1000032225 | 版本01



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小鼠骨髓中分离出无磁珠标记且高纯度的祖细胞。当使用其他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84%
- 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祖细胞。非目的细胞用生物素化抗体和磁珠标记, 并通过EasySep™磁极进行无柱分选。目的细胞被简单地倾倒入至一个新的试管中。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

组分名称	组号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™小鼠造血祖细胞分选抗体混合物	19856C	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™ Streptavidin RapidSpheres™ 50001磁珠	50001	1 x 1 mL	2 - 8 °C 储存。 勿冷冻	具体效期请见标签。	保存在PBS中的磁珠悬浮液。
EasySep™小鼠FcR阻断剂	18730	1 x 0.2 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。

BSA - 牛血清白蛋白; 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

骨髓

使用配备23G 针头的注射器, 将股骨和胫骨中的骨髓细胞冲洗到推荐的培养基中。通过将细胞悬液在注射器内轻轻多次往返抽吸, 以分散细胞团块。或者, 也可以使用研钵和研杵捣碎骨头。将细胞悬液通过 70 μm 的尼龙滤筛, 以去除残留的细胞团块和碎屑。以 300 x g 离心10分钟, 然后将细胞重悬于推荐培养基中, 使终浓度达到 1×10^8 有核细胞/mL。

在制备用于分选的骨髓样本时, 不建议使用氯化铵处理。

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⁺⁺、Mg⁺⁺和生物素。

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™小鼠造血祖细胞分选试剂盒操作流程

		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。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 8 mL
2	在样本中加入FcR阻断剂。	20 µL/mL样本	20 µL/mL样本
3	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯圆底管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯圆底管 (如: 产品号 #38008)
4	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。	在2 - 8°C下孵育15分钟	在2 - 8°C下孵育15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™磁珠加到样本中混匀。	75 µL/mL样本	75 µL/mL样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C下孵育10分钟	在2 - 8°C下孵育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 ≤ 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*， 倾倒入富集的细胞悬液至一个新的试管中。	使用新的14 mL管	· 对于 ≤ 4 mL的起始样本，使用新的14 mL管 · 对于 > 4 mL的起始样本，使用新的50 mL管
9	从磁极中取出试管，并加入推荐缓冲液定容至指定 体积。通过轻轻上下吹吸5 - 6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
10	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
11	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*， 倾倒入富集的细胞悬液。	与步骤8中第一次倒出的细胞悬液合并， 分选后的细胞可立即用于下游应用	与步骤8中第一次倒出的细胞悬液合并， 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。

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2。

表2.RoboSep™小鼠造血祖细胞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。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 8 mL	
2	在样本中加入FcR阻断剂。	20 μL/mL 样本	
3	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯圆底管 (如: 产品号 #38008)	
4	选择实验程序。	小鼠造血祖细胞分选 19856	
5	涡旋振荡RapidSpheres™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	

注意事项和提示

纯度评估

从骨髓中分离小鼠造血干祖细胞 (HSPCs) 的第一步是去除成熟血细胞 (表达终末分化血细胞特异“谱系” (Lin) 抗原)。HSPCs上不表达或仅弱表达谱系抗原。谱系抗原包括CD3、CD11b、CD19、CD45R (B220)、Ly6G/C (Gr-1) 和TER119。在许多小鼠品系中，HSPCs表现为Sca1 (Ly-6A/E) 和c-Kit (SCF 受体, 别称CD117) 阳性, 因此被称为LSK (Lin-Sca1+c-Kit+) ^{1,2,3,4}。LSK细胞占骨髓有核细胞的0.1%或更少, 包含大多数再生干细胞, 但缺乏更成熟的红系、髓系和巨核系细胞, 包括大多数集落形成单位 (CFUs), 这些细胞通常为Lin-Sca1^{low}c-Kit⁺。小鼠HSPCs在其他抗原 (如CD34和Thy1) 上的表达是异质的。

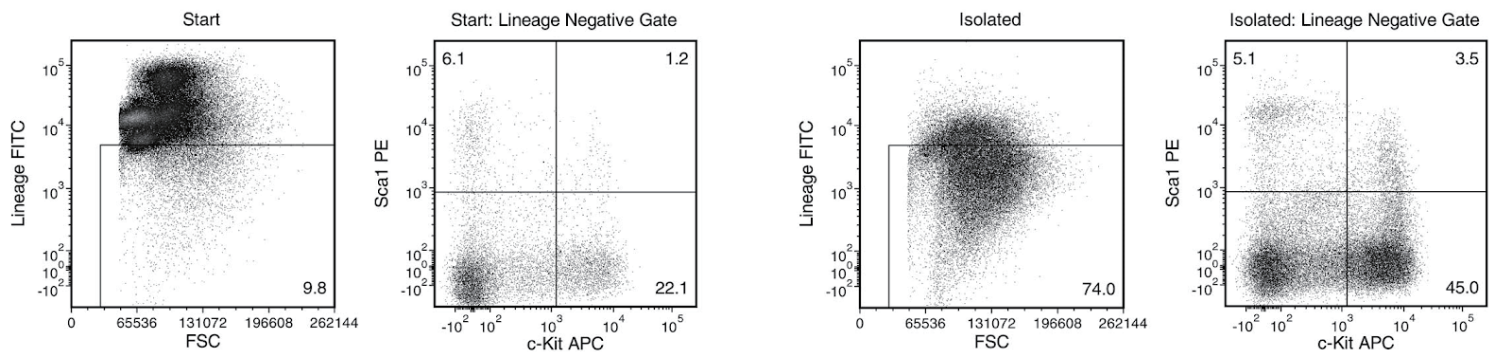
要通过流式细胞术评估这些祖细胞亚群的纯度, 请使用以下荧光偶联的抗体克隆:

- 抗小鼠CD117抗体, 克隆2B8 (产品号 #60025), 以及
- 抗小鼠Sca1抗体、克隆E13-161.7 (产品号 #60032), 以及
- 抗小鼠谱系特异性抗体 (见下方)

对于谱系特异性抗原标记, 请使用以下荧光偶联的抗体克隆:

- 抗小鼠CD3e抗体, 克隆145-2C11 (产品号 #60015), 以及
- 抗小鼠CD11b抗体, 克隆M1/70 (产品号 #60001), 以及
- 抗小鼠CD19抗体, 克隆6D5 (产品号 #60006), 以及
- 抗小鼠CD45R抗体, 克隆RA3-6B2 (产品号 #60019), 以及
- 抗小鼠Gr-1抗体, 克隆RB6-8C5 (产品号 #60028), 以及
- 抗小鼠TER119抗体, 克隆TER-119 (产品号 #60033)

实验数据



起始样本为小鼠骨髓细胞悬液, 分选后的谱系抗原阴性的细胞含量通常为60 - 84%。

参考文献

1. Spangrude GJ et al. (1988) Purification and characterization of mouse hematopoietic stem cells. *Science* 241: 58–62.
2. Uchida N & Weissman IL. (1992) Searching for hematopoietic stem cells: evidence that Thy-1.1lo Lin- Sca-1+ cells are the only stem cells in C57BL/Ka-Thy-1.1 bone marrow. *J Exp Med* 175(1): 175–84.
3. Okada S et al. (1992) In vivo and in vitro stem cell function of c-kit- and Sca-1-positive murine hematopoietic cells. *Blood* 80(12): 3044–50.
4. Osawa M et al. (1996) In vivo self-renewal of c-Kit+ Sca-1+ Lin(low/-) hemopoietic stem cells. *J Immunol* 156(9): 3207–14.
5. Akashi K et al. (2000) A clonogenic common myeloid progenitor that gives rise to all myeloid lineages. *Nature* 404(6774): 193–7.

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。

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、EasySep、RoboSep和RapidSpheres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，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。