EasySep™小鼠中性粒细胞富集试剂盒

可处理 1 x 10^9 个细胞

产品号 #19762
#19762RF RoboSep™

负选

文档号 #10000032231 | 版本01

STEMCELL TECHNOLOGIES
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小鼠中性粒。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93%（血液）和91%（骨髓）。
- 分选得到的细胞不带标记

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中性粒细胞。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出至一个新的试管中。分选后的细胞可立即用于下游应用，例如流式细胞术、培养或基于细胞的检测分析。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ 小鼠中性粒细胞富集抗体混合物	19762C	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™ 生物素分选抗体混合物	19153	1 x 1 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™ D Magnetic Particles	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
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; TBS - Tris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 针头的注射器和推荐的缓冲液将股骨和胫骨中的骨髓细胞冲洗出来。用注射器轻柔吹吸细胞悬液数次以打散细胞聚团。或者可使用研钵和研杵将骨髓从骨头中压出。使用70 µm 尼龙滤筛过滤细胞悬液，以去除残余的聚团和碎片。300 x g 离心10分钟，并将细胞以 1 x 10^8 有核细胞/mL 重悬于推荐缓冲液中。

制备用于分选的骨髓样本时，不建议使用氯化铵处理样本。

外周血

血液样本使用前需要裂红。将血液与氯化铵溶液（产品号 #07800）以1:9的比例混合，并在冰上孵育15分钟。以 300 x g 离心6分钟。弃去上清液并用推荐的缓冲液洗涤细胞沉淀一次。弃去上清液，将细胞沉淀以 1 x 10^8 有核细胞/mL 的浓度重悬于推荐缓冲液中。
如果有核细胞数少于 5 x 10^7 细胞/mL，请重悬于500 µL 推荐缓冲液中。

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。HBSS，调整配方（不含Ca++和Mg++；产品号 #37250）可用于代替PBS（产品号 #37350）。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。

表1.EasySep™ 小鼠中性粒细胞富集试剂盒操作流程

		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 注意：若起始细胞数少于 5 x 10^7，使用0.5 mL推荐缓冲液重悬细胞。	1 x 10^8 细胞/mL 0.5 - 6.5 mL 注意：若起始细胞数少于 5 x 10^7，使用0.5 mL推荐缓冲液重悬细胞。
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 x75 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	在样本中加入富集抗体混合物。 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	使用推荐的缓冲液加满试管以清洗细胞。	300 x g 离心10分钟	300 x g 离心10分钟
	去除上清液，并使用推荐缓冲液按起始样本体积重悬细胞沉淀。	0.5 - 2 mL	0.5 - 6.5 mL
6	在样本中加入生物素抗体混合物。 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
7	涡旋磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
8	将磁珠加入到样本中。	150 µL/mL 样本	150 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
9	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3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*，倾倒富集的细胞悬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）

*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™ 小鼠中性粒细胞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。	1 x 10^8 细胞/mL 0.5 - 6.5mL 注意：若起始细胞数少于 5 x 10^7，使用0.5 mL 推荐缓冲液重悬细胞。
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) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
4	在样本中加入富集抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C 下孵育15分钟
5	使用推荐的缓冲液加满试管以清洗细胞。	300 x g 离心10分钟
	去除上清液，并使用推荐缓冲液按起始样本体积重悬细胞沉淀。	0.5 - 6.5 mL
6	选择实验程序。	小鼠中性粒细胞负选 19762
7	涡旋磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒
8	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
9	卸载转盘。	分选后的细胞可立即用于下游应用

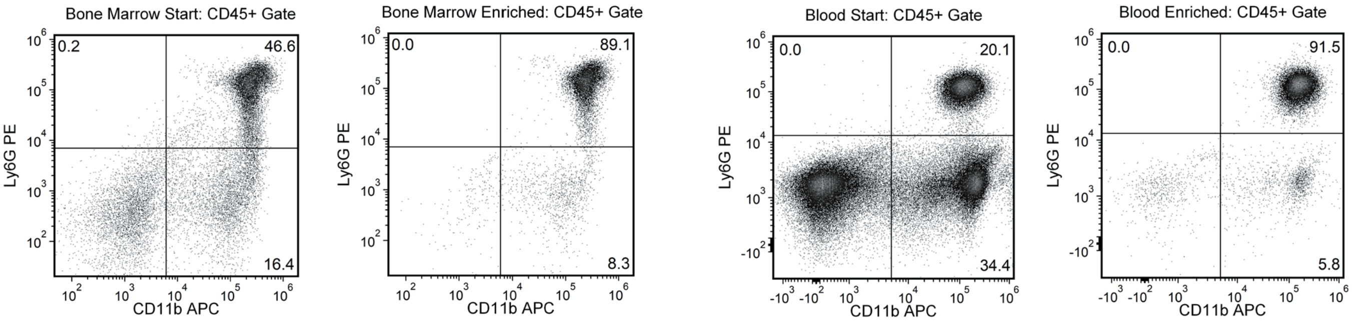
注意事项和提示

纯度评估

目前尚未发现专属于小鼠骨髓和外周血中性粒细胞的标志物。不过，已知中性粒细胞表达CD11b、Gr-1、Ly-6C和Ly-6G。要通过流式细胞术评估中性粒细胞（CD11b+Ly-6G+）的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体:

- 抗小鼠CD11b抗体，克隆M1/70（产品号 #60001），以及
- 抗小鼠Ly-6G抗体，克隆1A8 (产品号 #60031)

实验数据



起始样本为小鼠骨髓或小鼠血液，分选后细胞中 CD11b+Ly6G+ 细胞的含量通常为88.2 ± 3.2% (骨髓) 和88.6 ± 4.9% (血液) (平均值 ± 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46.6%和89.1% (骨髓)；20.1%和91.5% (血液)。

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和RoboSep均是STEMCELL Technologies Canada Inc.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。