

EasySep™小鼠 F4/80 正选试剂盒

可处理来源于肺组织的 7.5×10^8 个细胞

产品号 #100-0659

正选

文档号 #1000032504 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

通过正选从小鼠肺组织中分离高纯度的F4/80+细胞。

- 操作简单、快速
- 纯度高达95%
- 分选得到的细胞无荧光标记

该试剂盒使用识别F4/80细胞表面标志物的抗体来正选F4/80+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、细胞培养以及基于细胞的实验。

注：本产品说明书（PIS）适用于从小鼠肺组织中分离F4/80+细胞。如果需要从小鼠脾细胞或腹腔灌洗液中分离F4/80+细胞，请参阅适用的PIS，可访问www.stemcell.com查询或联系我们获取。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™小鼠F4/80正选组分A	300-0251	1 x 0.3 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F4/80正选组分B	300-0253	1 x 0.6 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻	具体效期请见标签。	保存在含5% HPCD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。
小鼠 FcR PolyBlock	300-0902	1 x 1.2 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻	具体效期请见标签。	保存在含有5 µg/mL Triton X-100的水中的多克隆抗体和麦芽糖混合物。

BSA - 牛血清白蛋白；HPCD - 2 - 羟丙基-β-环糊精；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

肺组织

以下说明适用于处理5 - 10个小鼠肺脏。如果起始样本超过10个肺脏，请相应调整体积。

1. 将1 mL胶原酶/透明质酸酶（产品号 #07912）和1.5 mL DNase I溶液（1 mg/mL; 产品号 #07900）添加到7.5 mL的RPMI 1640培养基（产品号 #36750）中，制备10 mL肺消化液。预热至室温（15 - 25°C）。
2. 将肺组织收集到含有PBS和2%胎牛血清（FBS）的50 mL锥形管中。
3. 将肺组织转移到新的含有10 mL消化液的50 mL锥形管中。用剪刀将组织剪碎成小块。在摇床上以37°C孵育20分钟。
4. 将70 μm尼龙滤筛（例如产品号 #27260）放在100 mm培养皿（如产品号 #38045）上，并用注射器活塞的橡胶端将消化的肺组织推过滤筛，以获得细胞悬液。
5. 将新的70 μm尼龙滤筛放在50 mL锥形管上，过滤细胞悬液。用推荐的缓冲液冲洗滤筛并收集在同一锥形管中。
6. 在室温下以300 x g离心10分钟（刹车设置为低）。小心地弃去上清。
7. 将20 mL氯化铵溶液（产品号 #07800）添加到细胞沉淀中。在室温下孵育5分钟。
8. 用推荐缓冲液定容至50 mL。在室温下以300 x g离心10分钟（刹车设置为低）。小心地弃去上清。
9. 使用推荐缓冲液以 5×10^7 有核细胞/mL的浓度重悬细胞。

脾脏或腹腔灌洗液

如果需处理脾脏或腹腔灌洗液，请参阅适用的PIS，可访问www.stemcell.com查询或联系我们获取。


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.用于肺组织的EasySep™小鼠F4/80正选试剂盒操作流程

		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。	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.1 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 8 mL
2	将小鼠FcR PolyBlock加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 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。每1 mL样本需制备60 µL抗体混合物 (20 µL 组分 A + 40 µL 组分 B)。	将组分 A 和组分 B 按 1:2 的比例混合。 注: 分选抗体混合物必须每次现用现配。	将组分 A 和组分 B 按 1:2 的比例混合。 注: 分选抗体混合物必须每次现用现配。
	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。	60 µL/mL 样本	60 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。	80 µL/mL 样本	80 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5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 ≤ 3 mL, 定容至 5 mL · 若样本 > 3 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
9	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*， 倾倒入清液。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	重复以上步骤	重复三次步骤8和9 (总共进行4次5分钟的分选)	重复三次步骤8和9 (总共进行4次5分钟的分选)
11	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从试管壁或孔板 中收集细胞。	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.用于肺组织的EasySep™小鼠F4/80正选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEPTM磁极		
		EasyPlate™ (产品号#18102)	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。	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.1 - 0.2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.25 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 8 mL
2	将小鼠FcR PolyBlock加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
3	将样本添加到所需的试管或孔板中。	圆底，非TC处理的96孔板 (如产品号 #38018)	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。每1 mL样本需制备60 µL抗体混合物 (20 µL 组分 A + 40 µL 组分 B)。	将组分 A 和组分 B 按 1:2 的比例混合。 注：分选抗体混合物必须每次现用现配。	将组分 A 和组分 B 按 1:2 的比例混合。 注：分选抗体混合物必须每次现用现配。	将组分 A 和组分 B 按 1:2 的比例混合。 注：分选抗体混合物必须每次现用现配。
	孵育。			
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。	60 µL/mL 样本	60 µL/mL 样本	60 µL/mL 样本
	混匀并孵育。			
6	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒	30 秒
7	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	80 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。			
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0.25 mL	定容至2.5 mL	· 若样本 ≤ 3 mL，定容至 5 mL · 若样本 > 3 mL，定容至10 mL
	将试管或孔板（不加盖）放入磁极中并孵育。			
9	小心地吸取**（切勿倾倒）上清液。从磁极上取下试管或孔板；试管或孔板中含有分选后的细胞。	弃去上清液	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0.25 mL	定容至2.5 mL	· 若样本 ≤ 3 mL，定容至 5 mL · 若样本 > 3 mL，定容至10 mL
	将试管或孔板（不加盖）放入磁极中并孵育。			
11	小心地吸取**（切勿倾倒）上清液。从磁极上取下试管或孔板；试管或孔板中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液	弃去上清液
12	重复以上步骤。	再重复两次步骤10和11 (总共进行4次5分钟的分选)	再重复两次步骤10和11 (总共进行1次10分钟和3次5分钟的分选)	再重复两次步骤10和11 (总共进行1次10分钟和3次5分钟的分选)
13	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从试管壁或孔板中收集细胞。	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	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])。)

注意事项和提示

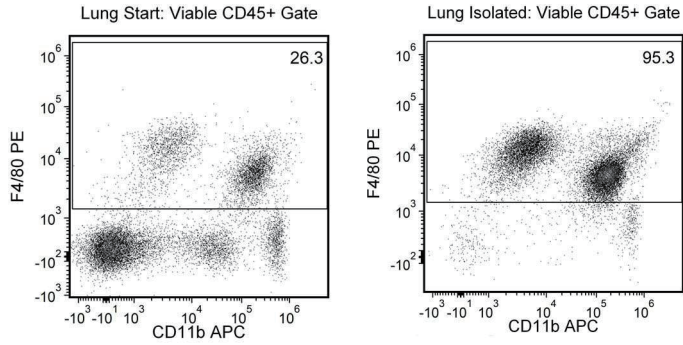
纯度评估

要通过流式细胞术评估细胞纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗小鼠F4/80抗体，克隆BM8 (产品号 #60027)，以及
- 抗小鼠CD11b抗体，克隆M1/70 (产品号 #100-0433)，以及
- 抗小鼠CD45抗体，克隆30-F11 (产品号 #60030)

注：为了在纯度评估时排除死细胞，建议使用核染料DRAQ7™。

实验数据



起始样本为naïve小鼠肺单细胞悬液，分选后的F4/80+细胞含量通常为 $93.4 \pm 1.5\%$ （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 26.3%和95.3%。

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、EasyEights、EasySep、EasyPlate、RoboSep和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。DRAQ7是Biostatus, Ltd.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，但对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。