

# EasySep™小鼠单核细胞分选试剂盒

可处理  $1 \times 10^9$  个细胞

产品号 #19861  
#19861RF RoboSep™

负选

文档号 #10000032505 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

电话: 400 885 9050

E-MAIL: [INFO.CN@STEMCELL.COM](mailto:INFO.CN@STEMCELL.COM)

## 产品介绍

通过免疫磁珠负选, 在短至15分钟内从小鼠骨髓、脾细胞、全血或其他单细胞悬液中分离出无磁珠标记且高纯度的单核细胞。

- 操作简单、快捷, 且无需分离柱
- 纯度高达95%
- 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单核细胞。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或吸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™小鼠单核细胞分选抗体混合物组分A	19861CA	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™小鼠单核细胞分选抗体混合物组分B	19861CB	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™ 50103磁珠	50103	1 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	2 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

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。

## 其他试剂稳定性信息

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4周。存放时间请勿超过各个组分标签上的效期 (EXP)。

## 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。以300 x g离心6分钟，然后使用推荐缓冲液以 $1 \times 10^8$ 有核细胞/mL的浓度重悬细胞。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 $1 \times 10^8$ 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 $5 \times 10^7$ ，请重悬于500 μL推荐缓冲液中。

### 脾脏

在含有2%胎牛血清 (FBS) 的PBS中机械解离脾脏。使用70 μm尼龙滤筛过滤细胞悬液，以去除聚团和碎片。以300 x g离心10分钟，然后使用推荐缓冲液以 $1 \times 10^8$ 有核细胞/mL的浓度重悬细胞。

制备用于分选的脾细胞样本时，不建议使用氯化铵处理样本。

## 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。HBSS，调整配方（不含Ca<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>；产品号 #37250）可用于代替PBS。缓冲液应该不含Ca<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>。

## 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™小鼠单核细胞分选试剂盒操作流程

		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 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.5 - 2 mL	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.5 - 8 mL
2	在样本中加入FcR阻断剂。	100 µL/mL 样本	100 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，制备100 µL抗体混合物 (50 µL组分A + 50 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。	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。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C下孵育5分钟	在2 - 8°C下孵育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。	75 µL/mL 样本	75 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C下孵育3分钟	在2 - 8°C下孵育3分钟
8	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 2.5 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*， 倾倒入富集的细胞悬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
10	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。

表2. EasySep™小鼠单核细胞分选试剂盒操作流程

		EASYSEP™磁极	
步骤	说明	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 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.5 - 2 mL	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.5 - 8 mL
2	在样本中加入FcR阻断剂。	100 µL/mL 样本	100 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，制备100 µL抗体混合物 (50 µL组分A + 50 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	
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。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C下孵育5分钟	在2 - 8°C下孵育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。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C下孵育3分钟	在2 - 8°C下孵育3分钟
8	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 2.5 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5分钟	室温孵育5分钟
9	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5 mL流式管	使用新的14 mL流式管
10	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
11	重复以上步骤。	---	步骤9和10 (总共进行3次5分钟的分选)
12	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™小鼠单核细胞分选试剂盒操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号#20000)	
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.5 - 8 mL	
2	在样本中加入FcR阻断剂。	100 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。 注意：不要涡旋抗体混合物。	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4周。	
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	
5	选择实验程序。	小鼠单核细胞分选试剂盒 19861	
6	涡旋振荡RapidSpheres™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。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

表4. 制备RoboSep™分选抗体混合物

起始样本	组分A	组分B	总体积
0.5 mL	75 µL	75 µL	150 µL
1 mL	100 µL	100 µL	200 µL
1.5 mL	125 µL	125 µL	250 µL
2 mL	150 µL	150 µL	300 µL
3 mL	200 µL	200 µL	400 µL
4 mL	250 µL	250 µL	500 µL
5 mL	300 µL	300 µL	600 µL
6 mL	350 µL	350 µL	700 µL
7 mL	400 µL	400 µL	800 µL
8 mL	450 µL	450 µL	900 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。

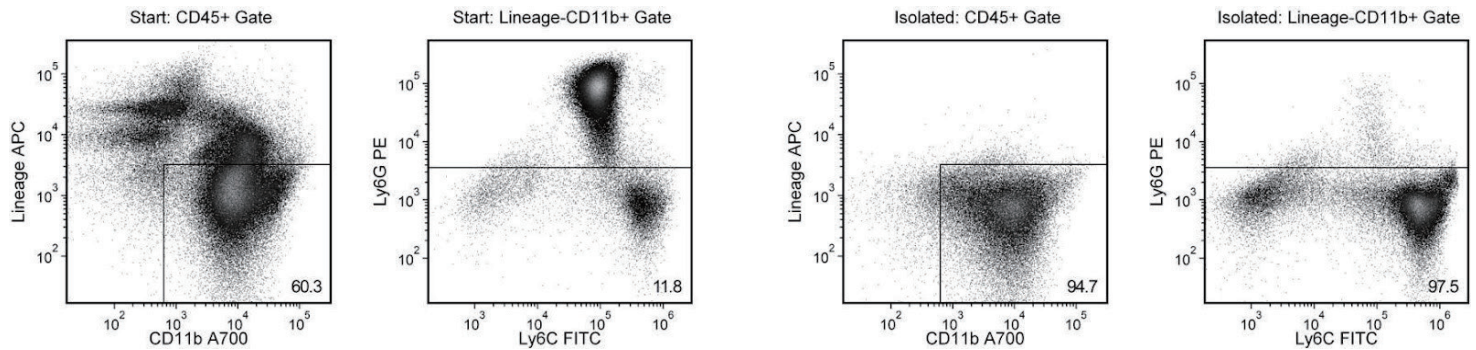
## 注意事项和提示

### 纯度评估

目前尚未发现专属于小鼠单核细胞的标志物。不过，已知单核细胞表达CD11b和CD115 (M-CSFR) 但不表达Ly-6G。Ly-6C的表达各不相同。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CD11b抗体，克隆M1/70 (产品号 #60001)，以及
- 抗小鼠CD3e抗体，克隆145-2C11 (产品号 #60015)，以及
- 抗小鼠CD45R (B220) 抗体，克隆RA3-6B2 (产品号 #60019)，以及
- 抗小鼠Ly-6G抗体，克隆1A8 (产品号 #60031)，以及
- 抗小鼠CD49b抗体，克隆DX5 (产品号 #60020)，以及
- 抗小鼠CD117 (c-Kit) 抗体、克隆ACK45，以及
- 抗小鼠Siglec F抗体，克隆E50-2440

## 实验数据



起始样本为小鼠骨髓细胞，分选后的单核细胞（谱系 (CD3、CD45R、CD117、CD49b、Siglec F) 阴性，CD11b+Ly6G- Ly6Chi/lo) 含量为 $89.5 \pm 4.8\%$ （使用紫色 EasySep™磁极，平均值±标准差）。在上述实验中，起始样本和分选后的单核细胞纯度分别为7.1%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](http://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、EasyPlate、EasySep、RoboSep 和 RapidSpheres 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。