

EasySep™小鼠 MDSC (CD11b+Gr1+) 分选试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #19867

负选

文档号 #1000032508 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

通过免疫磁珠负选从小鼠脾细胞、骨髓或外周血中分离不带标记且高纯度的髓源性抑制细胞 (MDSCs)。当使用来自其他组织类型的单细胞悬液时, 该试剂盒可能需要优化。

- 操作简单、快速
- 纯度高达96%
- 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生物素化抗体来去除非MDSCs。非目的细胞用生物素化抗体以及链霉亲和素包被的磁珠标记, 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、培养或基于细胞的实验。

包含组分

| 组分名称 | 组分号# | 规格 | 储存方式 | 效期 | 成分 |
|---|--------|------------|--------------------|----------|---|
| EasySep™小鼠MDSC (CD11b+Gr1+) 分选抗体混合物 | 19867C | 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 | 2 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 μ m 的细胞滤筛 (如产品号 #27215) 过滤, 以去除残留的细胞团块和碎屑。以 300 x g 离心6分钟, 然后将细胞重悬于推荐缓冲液中, 使终浓度达到 1×10^8 有核细胞/mL。

在制备用于分选的细胞时, 不建议使用氯化铵处理。

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清洗一次细胞沉淀。弃去上清液, 将细胞沉淀以 1×10^8 有核细胞/mL的浓度重悬于推荐缓冲液中。

如果细胞数少于 5×10^7 , 请重悬于500 μ L推荐的缓冲液中。

脾脏

在含有2%胎牛血清 (FBS) 的PBS中机械解离脾脏。使用70 μ m尼龙网筛 (如产品号 #27215) 过滤细胞悬液, 以去除细胞团块和碎片。以300 x g离心10分钟, 然后使用推荐缓冲液以 1×10^8 有核细胞/mL的浓度重悬细胞。

在制备用于分选的细胞时, 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) 或含有2% FBS和1 mM EDTA的PBS。改良HBSS (不含Ca⁺⁺和Mg⁺⁺; 产品号 #37250) 可用于代替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和表2。

表1.EasySep™ 小鼠MDSC (CD11b+Gr1+) 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 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 2 mL | 1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 8 mL |
| | 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) |
| 2 | 在样本中加入FcR阻断剂。 | 40 µL/mL 样本 | 40 µL/mL 样本 |
| 3 | 在样本中加入分选抗体混合物。 | 50 µL/mL 样本 | 50 µL/mL 样本 |
| | 混匀并孵育。 | 室温孵育10分钟 | 室温孵育10分钟 |
| 4 | 涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。 | 30 秒 | 30 秒 |
| 5 | 将RapidSpheres™磁珠加到样本中。 | 75 µL/mL 样本 | 75 µL/mL 样本 |
| | 混匀并孵育。 | 室温孵育5分钟 | 室温孵育5分钟 |
| 6 | 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3分钟 |
| 7 | 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 |

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MDSC (CD11b+Gr1+) 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 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 2 mL | 1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 8 mL |
| | 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) |
| 2 | 在样本中加入FcR阻断剂。 | 40 µL/mL 样本 | 40 µL/mL 样本 |
| 3 | 在样本中加入分选抗体混合物。 | 50 µL/mL 样本 | 50 µL/mL 样本 |
| | 混匀并孵育。 | 室温孵育10分钟 | 室温孵育10分钟 |
| 4 | 涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态 | 30 秒 | 30 秒 |
| 5 | 将RapidSpheres™磁珠加到样本中。 | 75 µL/mL 样本 | 75 µL/mL 样本 |
| | 混匀并孵育。 | 室温孵育5分钟 | 室温孵育5分钟 |
| 6 | 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3分钟 |
| 7 | 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 |

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]) 。

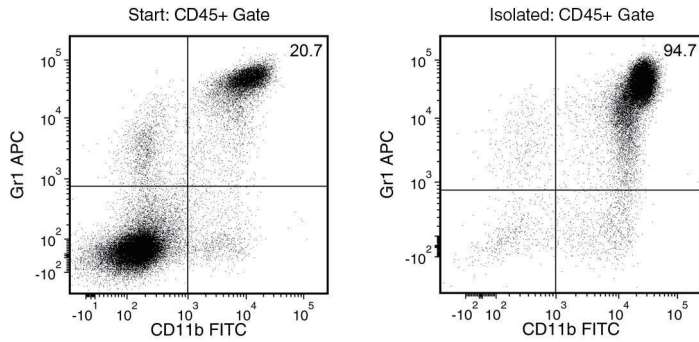
注意事项和提示

纯度评估

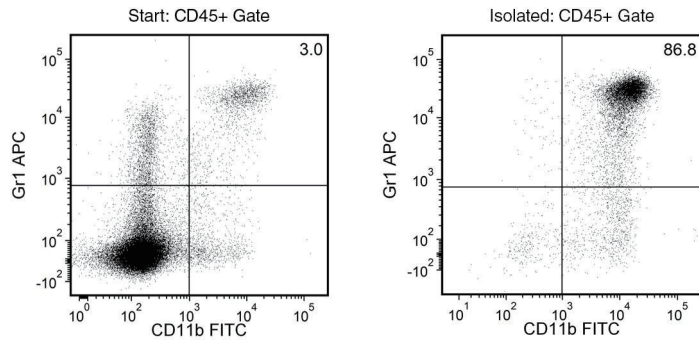
为了通过流式细胞术评估 MDSCs 的纯度，请使用以下荧光偶联的抗体克隆：

- 抗小鼠CD45抗体，克隆30-F11（产品号 #60030），以及
- 抗小鼠CD11b抗体，克隆M1/70（产品号 #60001），以及
- 抗小鼠Gr1抗体，克隆RB6-8C5（产品号 #60028）

实验数据



起始样本为4T1荷瘤BALB/c小鼠脾细胞，分选后的MDSC (CD11b+Gr1+) 含量通常为 $94.3 \pm 2.1\%$ （平均值±标准差，使用紫色EasySep™磁极）。在上述示例中，起始样本和分选后样本的目的细胞纯度分别为20.7%和94.7%。



起始样本为naive C57BL/6小鼠脾细胞，分选后的CD11b+Gr1+细胞含量通常为 $86 \pm 4.6\%$ （平均值±标准差，使用紫色EasySep™磁极）。在上述示例中，起始样本和分选后样本的目的细胞纯度分别为3.0%和86.8%。

STEMCELL Technologies Inc.的质量管理体系已经过ISO 13485认证。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。

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。