

EasySep™小鼠 CD11b 正选试剂盒II

可处理肺组织来源的 2×10^9 个细胞

产品号 #18970

正选

文档号 #10000035728 | 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CD11b+细胞。

- 操作简单、快速，且无需分离柱
- 纯度高达 96%
- 分选得到的细胞无荧光标记

该试剂盒通过识别CD11b表面标志物的抗体来正选CD11b+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入弃去，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。

注意：本产品说明书 (PIS) 适用于从小鼠肺组织中分离CD11b+细胞。如果需要从小鼠脾细胞、骨髓样本或小鼠脑组织中分离CD11b+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 CD11b正选II组分A	18970CA	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 CD11b正选II组分B	18970CB	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™ 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；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。

其它试剂稳定性信息

试剂名称	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。

样本制备

肺组织

1. 制备肺组织消化液，并预热到室温（15 - 25°C）。制备肺组织消化液，具体方法如下：
 - 终浓度为 0.25 mg/mL 的 Liberase™ TM科研级（Sigma-Aldrich，产品号 #5401119001）
 - 终浓度为 250 µg/mL 的 DNase I溶液（1 mg/mL；产品号 #07900）
 - 使用RPMI 1640 培养基（产品号 #36750）补足剩余体积。
2. 将肺组织收集到一个50 mL的锥形管中（如产品号 #38010）。使用PBS或含有 2%胎牛血清（FBS）的PBS冲洗。
3. 将肺组织转移到一个空的培养皿中。用刀片或手术刀切碎成均匀的糊状（< 1 mm的小块）。
4. 将切碎的肺组织转移到装有肺组织消化液的试管中，在 37°C摇床上孵育 30 分钟。
注意：使用 2 mL肺组织消化液最多可处理 4 个肺脏。若处理超过 4个肺脏，每个肺脏增加 0.5 mL的肺组织消化液。
5. 使用装有20G针头的注射器轻轻吹吸消化后的肺组织数次以分散团块。
6. 将70 µm尼龙滤筛（例如产品号 #27260）放置在50 mL锥形管上，用推荐的缓冲液润湿滤网。将消化后的肺组织转移到滤筛中，用注射器活塞的橡胶端将组织推过滤网，获得细胞悬液。用推荐缓冲液冲洗滤网。必要时使用新的滤筛。
7. 在室温下 300 x g 离心10分钟（刹车设置为低）。小心地弃去上清。
8. 将20 mL氯化铵溶液（产品号 #07800）添加到细胞沉淀中。冰上孵育10 - 15分钟。
9. 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。
10. 将细胞以 5×10^7 细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

脾脏、骨髓或脑组织

如果样本是脾脏或骨髓，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）、或含有2% FBS和 1mM 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 CD11b 正选试剂盒II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 0.2 - 1.5 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.2 - 3 mL
2	将小鼠FcR PolyBlock加到样本中。	25 µL/mL 样本	25 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 25 µL抗体混合物 (12.5 µL组分A + 12.5 µL组分B)。	将等体积的组分A和组分B混合 制备的抗体混合物可在 2 - 8°C 稳定保存不超过4周	将等体积的组分A和组分B混合 制备的抗体混合物可在 2 - 8°C 稳定保存不超过4周
	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。	25 µL/mL 样本	25 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。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3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	<ul style="list-style-type: none"> ●若样本 < 1 mL，定容至5 mL ●若样本 ≥ 1 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
9	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒下清液。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3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。 请确保从试管壁上收集细胞。	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 CD11b 正选试剂盒II操作流程

		EASYSEPTM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。	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.2 - 1 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 3 mL
2	将小鼠FcR PolyBlock加到样本中。	25 µL/mL 样本	25 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35 µL抗体混合物 (17.5 µL组分A + 17.5 µL组分B)。	将等体积的组分A和组分B混合 制备的抗体混合物可在 2 - 8°C 稳定保存不超过4周	
	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。	35 µL/mL 样本	35 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。	60 µL/mL 样本	60 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3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	<ul style="list-style-type: none"> ●若样本 < 2 mL, 定容至5 mL ●若样品 ≥ 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10分钟	室温孵育10分钟
9	小心地吸取** (切勿倾倒) 上清液。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	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	<ul style="list-style-type: none"> ●若样本 < 2 mL, 定容至 5 mL ●若样品 ≥ 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
11	重复以上步骤。	重复两次步骤9和10 (总共进行1次10分钟和3次5分钟的分选)	重复步骤9和10 (总共进行1次10分钟和2次5分钟的分选)
12	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从试管壁上收集细胞。	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)

** 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2 mL血清移液管 [产品号 #38002]; 对于EasyEights™ 14 mL流式管, 使用10 mL血清移液管 [产品号 #38004])。

注意事项和提示

纯度评估

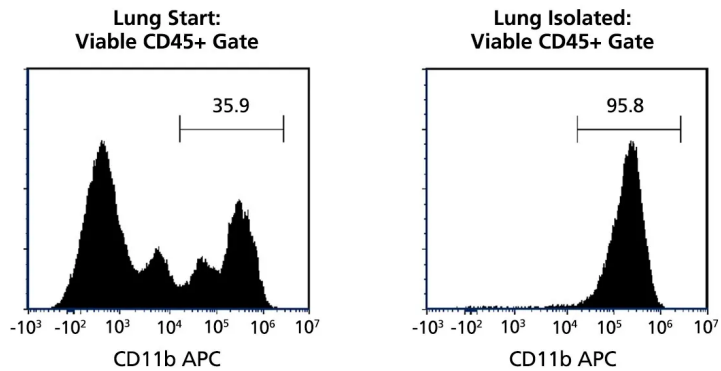
要通过流式细胞术评估细胞纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 浓度为 5 µg/mL的抗小鼠 CD11b抗体，克隆 M1/70（产品号 #60001）。

还可以使用以下方法：

- 使用荧光二抗，例如山羊抗小鼠 IgG (H+L) 多克隆抗体（产品号 #60138）。
- 在加入分选抗体混合物后，立即加入浓度为 0.5 µg/mL的荧光抗小鼠 CD11b抗体，克隆 M1/70。这种方法可以标记样本中全部的阳性细胞。

实验数据



起始样本为小鼠肺单细胞悬液，分选后的 CD11b+细胞含量通常可达 $95.5 \pm 1.3\%$ （平均值 \pm 标准差；使用 EasySep™ 紫色磁极）。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为 35.9% 和 95.8%。

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 及其设计及其徽标，以及 Scientists Helping Scientists、EasyEights、EasyPlate、EasySep、SepMate 和 RapidSpheres 均是 STEMCELL Technologies Canada Inc. 的商标。Liberase 是 Roche 的商标。所有商标均为各自所有者所有。STEMCELL Technologies Inc. 对使用本产品时可能发生的专利侵权或违规行为不承担任何责任。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。