

EasySep™小鼠 CD11b 正选试剂盒II

可处理来源于脾脏的 2×10^9 个细胞

产品号 #18970
产品号 #18970RF RoboSep™

正选

文档号 #10000035729 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

通过正选从小鼠脾脏细胞中分离高纯度的CD11b+细胞。

- 操作简单、快速,且无需分离柱
- 纯度高达95%
- 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)适用于从小鼠脾脏细胞中分离 CD11b+细胞。若从小鼠骨髓、肺组织或脑组织分离 CD11b+细胞,请参考其他适用的PIS,您可通过网站www.stemcell.com或直接联系我们获取。

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。
RoboSep™ 空管	27401	1	不适用。	不适用。	不适用。
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

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（如：产品号 #27260）过滤细胞悬液，以去除聚团和碎片。300 x g 离心10分钟，并弃去上清液。将每个脾脏的细胞沉淀重悬在约 0.5 mL含 2% FBS（不含 EDTA）的PBS中。加入DNase I溶液（产品号 #07900）至终浓度100 μg/mL，室温（15 - 25°C）下孵育10分钟。进行细胞计数，并以 1×10^8 个有核细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液（含1mM EDTA）中。

制备用于分选的样本时，不建议使用氯化铵处理样本。

骨髓、肺或脑组织

如果样本是骨髓、肺或脑组织，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 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. 用于脾脏的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。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 1 - 4 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30 µL抗体混合物 (20 µL组分A + 10 µL组分B)。	按2:1将组分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	按2:1将组分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。	30 µL/mL 样本	30 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。	100 µL/mL 样本	100 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 < 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。	重复四次步骤8和9 (总共进行5次3分钟的分选)	重复四次步骤8和9 (总共进行5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. 用于脾脏的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。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 1.5 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 1 - 4 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 30 µL 抗体混合物 (20 µL 组分A + 10 µL 组分B)。	按2:1将组分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。	30 µL/mL 样本	30 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。	100 µL/mL 样本	100 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 < 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 < 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
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)
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])。

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. 用于脾脏的RoboSep™小鼠 CD11b 正选试剂盒II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 1 - 4 mL	
2	将小鼠FcR PolyBlock加到样本中。	50 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。	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 下稳定保存不超过4周	
	孵育。	室温孵育5分钟	
5	选择实验程序。	小鼠 CD11b 正选 II 18970 脾脏	
6	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。	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。取出装有目的细胞的试管，然后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	

表4. 制备RoboSep™ 分选抗体混合物

起始样本	组分A	组分B	分选抗体混合物总体积
1 mL	75 µL	75 µL	150 µL
1.5 mL	87.5 µL	87.5 µL	175 µL
2 mL	100 µL	100 µL	200 µL
3 mL	125 µL	125 µL	250 µL
4 mL	150 µL	150 µL	300 µL

注: RoboSep™ 正常运行需要制备过量的分选抗体混合物 (如上表所示)。

注意事项和提示

纯度评估

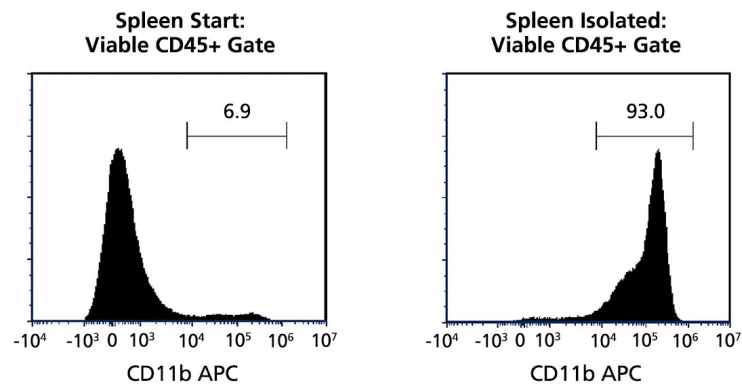
要通过流式细胞术评估细胞纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 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



起始样本为小鼠脾脏细胞，分选后CD11b+细胞的含量通常为 $91.5 \pm 4.3\%$ （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6.9%和93.0%。

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、EasyEights、EasyPlate、EasySep、RapidSpheres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，但对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。