

EasySep™ 人 ILC2 分选试剂盒

可处理 2×10^9 个细胞

产品号 #17782

正选

文档号 #1000035743 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

通过免疫磁珠正选, 从新鲜的外周血单个核细胞 (PBMCs) 或白细胞单采术样本中分离出高纯度的 2 型先天淋巴细胞 (ILC2s)。

- 操作简单、快捷, 且无需分离柱
- 纯度高达 95%
- 无需流式分选即可快速分离 ILC2s
- 无需清洗去除 EasySep™ Releasable RapidSpheres™ 可解离磁珠

首先, 通过使用抗体复合物和 EasySep™ Releasable RapidSpheres™ 可解离磁珠的免疫磁珠正选来分选 CRTH2+细胞。接着, 结合在使用 EasySep™ 分离的 CRTH2+细胞上的磁珠被解离, 并通过抗体复合物和 EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 去除非 ILC2s 细胞。最终分选后的细胞中含有高纯度的 ILC2s, 可立即用于下游应用。使用该 EasySep™ 试剂盒分选之后, 细胞表面仍结合有抗体复合物, 并可能与 Brilliant Violet™ 偶联的抗体、聚乙二醇修饰的蛋白质或其他化学相关配体相互作用。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ 人 CRTH2-PE 正选抗体混合物	17782CA	1 x 0.1 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 0.05% 叠氮化钠的 PBS 中的单克隆抗体。
EasySep™ Release PE 正选抗体混合物	17654C	1 x 1 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™ 人 ILC2 细胞分选抗体混合物	17782CB	1 x 0.5 mL	2 - 8°C 储存, 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在 PBS 中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ Releasable RapidSpheres™ 50201 磁珠	50201	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™ 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。
用于正选的 EasySep™ 抗人 CD32 (Fc gamma RII) 阻断剂	18520	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存, 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在 PBS 中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ Release 缓冲液	20145	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存, 勿冷冻。	具体效期请见标签。	用于正选后从细胞上解离 Releasable RapidSpheres™ 磁珠的缓冲液。

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

有关可用的新鲜样本, 请参见 www.stemcell.com/primarycells。

外周血

通过在密度梯度离心液 (如 Lymphoprep™, 产品号 #18060) 上离心, 从全血中制备外周血单个核细胞 (PBMC) 悬液。如需更快地制备 PBMC, 可以使用 SepMate™ RUO (产品号 #86450/86415) 或 SepMate™ IVD* (产品号 #85450/85415) 细胞分选管。制备后, 将细胞以 2×10^8 细胞 /mL 重悬于推荐缓冲液中。

* SepMate™ (IVD) 在特定地区作为体外诊断设备使用, 其预期用途是通过密度梯度离心法从全血或骨髓中分离单个核细胞 (MNCs)。SepMate™ 在符合 21 CFR 820 标准的 cGMP 质量管理体系下生产。在其他所有地区, SepMate™ 仅限于研究用途 (RUO)。

白细胞单采术样本

通过添加等体积的推荐缓冲液或含有 2% 胎牛血清 (FBS) 的 PBS 来清洗外周血白细胞单采术样本。
在室温 (15 - 25°C) 下以 300 x g 离心 10 分钟。如果需要裂解红细胞, 请使用氯化铵溶液 (产品号 #07800) 进行裂解。
如果需要去除血小板, 请关闭离心机刹车, 以 120 x g 离心 10 分钟。去除上清液, 并使用推荐的缓冲液以 2×10^8 细胞/mL 重悬细胞。

推荐缓冲液

EasySep™ 缓冲液 (产品号 #20144) 或含 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 1 页和第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。

表1.EasySep™人 ILC2 分选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEP™磁极	
		 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。	2 x 10 ⁸ 细胞/mL 1 mL 注：如果起始样本的细胞数量少于 2 x 10 ⁸ ，请将细胞重悬于 1 mL 中。	2 x 10 ⁸ 细胞/mL 1 - 4 mL 注：如果起始样本的细胞数量少于 2 x 10 ⁸ ，请将细胞重悬于 1 mL 中。
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	在样本中加入CRTH2-PE 正选抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。 混匀并孵育。	10 µL/mL 样本 室温孵育 5 分钟	10 µL/mL 样本 室温孵育 5 分钟
5	添加推荐的缓冲液，将样本定容至指定体积并离心。将样本重悬至原始体积。	用推荐的缓冲液定容至 4 mL， 然后在室温下以 300 x g 离心 10 分钟，刹车设置为低。 小心地吸出并弃去上清液。 将样本重悬至与步骤 1 中相同的体积。	用推荐的缓冲液定容至 12 mL， 然后在室温下以 300 x g 离心 10 分钟，刹车设置为低。 小心地吸出并弃去上清液。 将样本重悬至与步骤 1 中相同的体积。
6	在样本中加入Release PE正选抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。 混匀并孵育。	100 µL/mL 样本 室温孵育 5 分钟	100 µL/mL 样本 室温孵育 5 分钟
7	涡旋振荡Releasable RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
8	将Releasable RapidSpheres™磁珠加到样本中。 混匀并孵育。	100 µL/mL 样本 室温孵育 5 分钟	100 µL/mL 样本 室温孵育 5 分钟
9	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。 将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	定容至 2.5 mL 室温孵育 15 分钟	<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 室温孵育 15 分钟
10	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒入上清液。从磁极中取出试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液
11	重复以上步骤。	步骤 9 和 10 (总共进行 2 次 15 分钟的分选)	步骤 9 和 10 (总共进行 2 次 15 分钟的分选)
继续步骤 12，下一页		继续步骤 12，下一页	继续步骤 12，下一页

		EASYSEPTM磁极	
步骤	说明 (续)	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy”™ (产品号 #18001)
12	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。请确保从管壁上收集细胞。	定容至 1 mL	定容至 1 mL
13	在样本中加入Release缓冲液。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育 5 分钟	室温孵育 5 分钟
14	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	定容至 5 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
15	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒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
16	离心并重悬样本。	在室温下，300 x g 离心10 分钟，刹车设置为低。小心地吸出并弃去上清液。重悬于 1 mL中。	在室温下，300 x g 离心10 分钟，刹车设置为低。小心地吸出并弃去上清液。重悬于1 mL中。
17	在样本中加入 ILC2 分选抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。	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
18	涡旋Dextran RapidSpheres™ 磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
	将 Dextran RapidSpheres™ 磁珠加到样本中混匀。	50 µL/mL 样本 不进行孵育，立即进行下一步骤	50 µL/mL 样本 不进行孵育，立即进行下一步骤
19	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	定容至 5 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
20	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒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
21	将 Dextran RapidSpheres™ 磁珠添加到含有富集细胞的新试管中并混匀。	50 µL 不进行孵育，立即进行下一步骤	50 µL 不进行孵育，立即进行下一步骤
22	将步骤 21 中的试管（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**
23	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒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。

** 进行额外一次 5 分钟的磁极分选可以提高细胞纯度。

注意事项和提示

纯度评估

ILC2s 的表型为CD45阳性，谱系阴性，CD294 (CRTH2) 阳性，CD161阳性和CD127阳性。要通过流式细胞术评估 ILC2s 的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

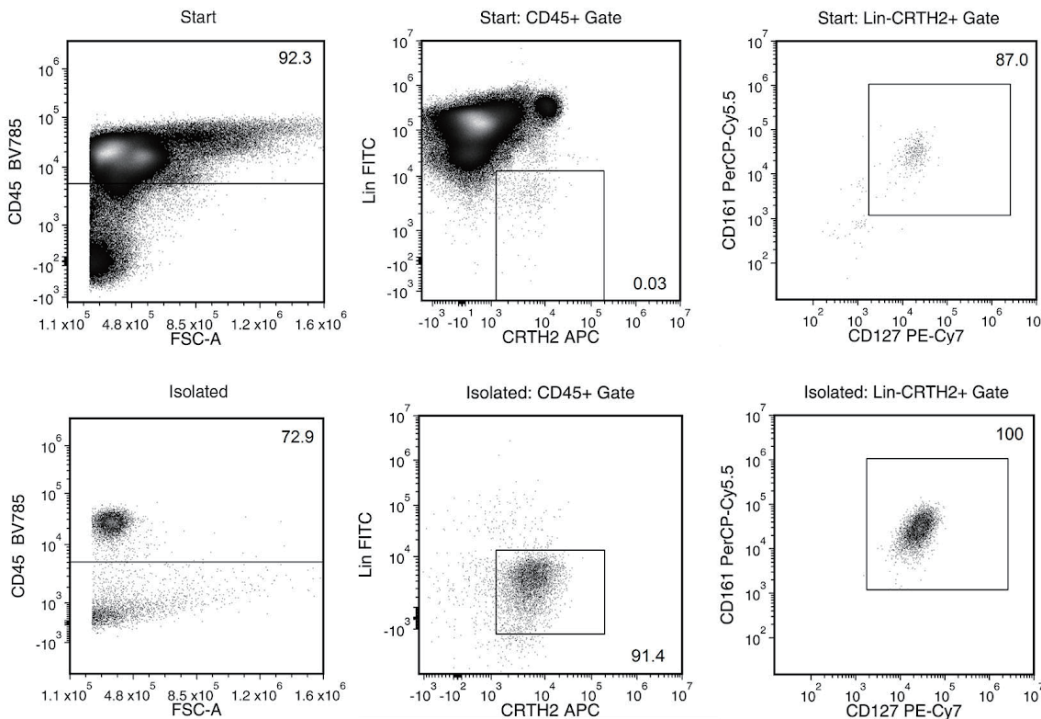
- 抗人CD45抗体，克隆 HI30 (产品号 #60018)，以及
- 抗人CD294 (CRTH2) 抗体、克隆BM16，以及
- 抗人CD161 (KLRB1) 抗体，克隆HP-3G10，以及
- 抗人CD127 (IL-7Ra) 抗体，克隆A019D5，以及
- 抗人谱系特异性抗体 (见下方)

对于谱系特异性抗原标记，请使用以下荧光偶联抗体：

- 抗人CD1a抗体，克隆HI149，以及
- 抗人CD3抗体，克隆UCHT1 (产品号 #60011)，以及
- 抗人CD4抗体，克隆RPA-T4，以及
- 抗人CD11c抗体，克隆3.9，以及
- 抗人CD14抗体，克隆M5E2 (产品号 #60004)，以及
- 抗人CD16抗体，克隆3G8 (产品号 #60041)，以及
- 抗人CD19抗体，克隆HIB19 (产品号 #60005)，以及
- 抗人CD34抗体，克隆581 (产品号 #60013)，以及
- 抗人CD94抗体，克隆DX22，以及
- 抗人CD123 (IL-3Ra) 抗体，克隆6H6 (产品号 #60110)，以及
- 抗人CD303抗体，克隆201A，以及
- 抗人FceR1a抗体、克隆AER-37 (CRA-1)，以及
- 抗人TCR alpha/beta抗体，克隆IP26，以及
- 抗人TCR gamma/delta抗体，克隆B1

注意：在使用 Brilliant Violet™ 偶联抗体进行流式细胞仪或荧光显微镜分析之前，需要在 EasySep™ Release 分选的细胞上仔细滴定 Brilliant Violet™ 偶联抗体。使用 Brilliant Violet™ 偶联抗体进行纯度评估时，建议使用 BD Horizon Brilliant™ 染色缓冲液以减少非特异性相互作用。如需了解更多信息，请参阅生产厂商的说明或通过info.cn@stemcell.com与我们联系。

实验数据



起始样本为新鲜的白细胞单采术样本，分选后的 ILC2 含量 (CD45+Lin-CRTH2+CD161+CD127+) 通常为 84 - 95%。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为 0.03% 和 91% (以 CD45 设门)。

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、EasyPlate、EasySep、SepMate和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。以Lymphoprep品牌销售的产品也是由Serumwerk Bernburg AG生产。所有商标为各自所有者所有。Brilliant Violet是Singen Group Ltd的商标。BD Horizon Brilliant是Becton, Dickinson and Company的商标。该试剂盒的用户应确保他们有权使用目的抗体。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。