

EasySep™小鼠 CD11b 正选试剂盒II

可处理 7×10^8 个来源于脑组织的细胞

产品号 #18970

正选

文档号 #10000035745 | 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小鼠脑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98%
- 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）适用于从小鼠脑组织中分离CD11b+细胞。如果需要从小鼠脾细胞、骨髓样本或小鼠肺中分离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。
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

*从脑组织中分离CD11b+细胞时不需要

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

脑组织

- 按以下配方准备样品制备培养基：
 - 含2% FBS及15 mM HEPES 的DMEM/F-12 (产品号 #36254)，或者
 - 含2% FBS和1 mM EDTA 的HBSS，调整配方（不含Ca⁺⁺和Mg⁺⁺；产品号 #37250）。
- 按以下方法制备脑组织消化液：
 - 终浓度为20 units/mL 的木瓜蛋白酶 (产品号 #07465)
 - 终浓度为100 µg/mL 的DNase I溶液 (1 mg/mL；产品号 #07900)
 - 使用HBSS、调整配方（不含 Ca⁺⁺和Mg⁺⁺）或含15 mM HEPES的DMEM/F-12，补足剩余体积。使用前将消化液预热至室温（15 - 25°C）。
注：消化不超过3个脑组织时，需要准备3 mL 脑组织消化液。若消化4个或更多脑组织，每个脑组织需准备1 mL 脑组织消化液。
- 在培养皿中加入至少1 mL 脑组织消化液（如产品号 #27110）。
- 将脑组织放入步骤3中准备好的培养皿中。用剪刀、手术刀或刀片将脑组织切碎成小块（< 1 mm）。
- 将切碎的脑组织转移到一个50 mL 的锥形管中（如产品号 #38010）。用剩余的脑组织消化液冲洗培养皿，然后加入50 mL 锥形管中。在37°C摇床上孵育30分钟。
- 将70 µm 尼龙滤筛（如产品号 #27260）放在新的50 mL 锥形管上，并用样品制备培养基（步骤1中制备）润湿。将消化后的脑组织转移到滤筛中，用注射器活塞的橡胶端将组织推过滤网，获得细胞悬浮液。用样品制备培养基冲洗滤筛。必要时使用新的滤筛。
- 在室温或2 - 8°C下，300 x g离心10分钟（刹车设置为低）。使用血清移液管，小心地移除并弃去上清液。
- 每个脑组织制备6 mL 的30% Percoll® 溶液（将3份100% 等渗Percoll®与7份样本制备培养基混合）。
注：要配制100%等渗Percoll® 溶液，请将9份 Percoll®（GE Healthcare，产品号 #17-0891-01）与1份10倍浓缩D-PBS（不含Ca⁺⁺和Mg⁺⁺；产品号 #37354）混合。
- 向细胞沉淀中加入30%的Percoll® 溶液（步骤8中制备）。
注意：当体积 > 30 mL 时，使用50 mL 试管；当体积 < 30 mL 时，使用一个或多个14 mL 试管)
- 在室温或2 - 8°C下，700 x g，离心10分钟（关闭离心机刹车）。
- 使用1 mL 宽口枪头或2 mL 血清移液管（如产品号 #38002），小心移除并弃去上层的髓磷脂。
- 使用血清移液管，小心地移除并弃去剩余上清液。
- 将细胞转移到一个新的试管中。使用样本制备培养基加满试管。在室温或2 - 8°C下，300 x g离心10分钟（刹车设置为低）。小心地弃去上清。
- 将细胞以 2.5 x 10⁷ 细胞/mL 的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

脾脏，骨髓或者肺组织

如果样本是脾脏，骨髓或者肺组织，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）或含有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.用于脑组织的EasySep™小鼠 CD11b 正选试剂盒II操作流程

		EASYSEPT™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。	2.5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.1 - 1 mL	2.5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.1 - 1 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稳定保存长达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稳定保存长达4周
	孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
3	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
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。	80 μL/mL 样本	80 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
7	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
8	重复以上步骤。	步骤6和7，再重复两次 (总共进行3次5分钟的分选)	步骤6和7，再重复两次 (总共进行3次5分钟的分选)
9	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。不要摇晃或擦拭掉任何仍可能挂在管口的任何液滴。

表2.用于脑组织的EasySep™小鼠 CD11b 正选试剂盒II操作流程

步骤	说明	EASYSEP™磁极	
		 EasyPlate™ (产品号 #18102)	 EasyEights™ (产品号 #18103) 5 mL流式管
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	2.5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.05 - 0.2 mL	2.5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.1 - 0.5 mL
	将样本添加到所需的试管中(若使用EasyPlate™ EasySep™磁极，将样本加到孔板中)。	圆底，非TC处理的96孔板(如产品号 #38018)	5 mL (12 x 75 mm) 圆底聚苯乙烯流式管(如: 产品号 #38007)
2	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稳定保存长达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稳定保存长达4周
	孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
3	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
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。	80 μL/mL 样本	80 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0.25 mL	定容至2.5 mL
	将试管或孔板(不加盖)放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育10分钟
7	小心地吸取*(切勿倾倒)上清液。从磁极中取出含有分选后的细胞的试管或孔板。	弃去上清液	弃去上清液
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0.25 mL	定容至2.5 mL
	将试管或孔板(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	小心地吸取*(切勿倾倒)上清液。从磁极中取出含有分选后的细胞的试管或孔板。	弃去上清液	弃去上清液
10	重复以上步骤。	步骤8和9 (总共进行3次5分钟的分选)	步骤8和9 (总共进行1次10分钟和2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)

*使用单个移液管一次性收集全部上清液(例如, 对于EasyEight™ 5 mL 试管, 使用2 mL 血清移液管 [产品号 #38002])。

注意事项和提示

纯度评估

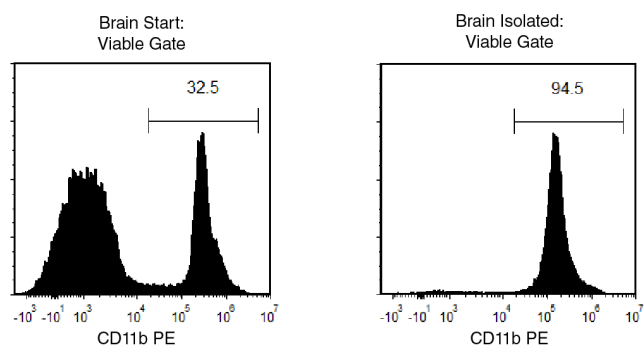
要通过流式细胞术评估细胞纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 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



起始样本为小鼠脑细胞的单细胞悬液，分选后的CD11b+细胞含量通常可达 $94.2 \pm 4.0\%$ （平均值 ± 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的纯度分别为32.5%和94.5%。

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、EasySep和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Percoll是GE HealthCare Ltd.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。