

# EasySep™小鼠 Pan - ILC 富集试剂盒

可处理  $1 \times 10^9$  个细胞

产品号 #19875

负选

文档号 #1000035750 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

电话: 400 885 9050

E-MAIL: [INFO.CN@STEMCELL.COM](mailto:INFO.CN@STEMCELL.COM)

## 产品介绍

通过免疫磁珠负选从小鼠肺或淋巴结中富集无磁珠标记的 1 型和 2 型和 3 型先天淋巴细胞 (ILC1、2、3)。当使用其他类型组织来源的单细胞悬液时, 该试剂盒可能需要优化。

- 操作简单、快捷, 且无需分离柱
- 分选得到的细胞不带标记
- 便于快速流式分选 ILCs

该试剂盒通过使用识别细胞特异性表面标志物的抗体来去除非 ILCs。非目的细胞用生物素化抗体和磁珠标记, 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, 例如流式细胞术或流式分选。

## 包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™小鼠 Pan - ILC 富集抗体混合物	19875C	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。	保存在水中的磁珠悬浮液。

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

### 肺组织

以下说明适用于处理 5 - 10 个小鼠肺脏。如果起始样本超过 10 个肺脏, 请相应调整体积。

1. 将 1 mL 胶原酶/透明质酸酶 (产品号 #07912) 和 1.5 mL DNase I 溶液 (产品号 #07900) 添加到 7.5 mL 的 RPMI 1640 培养基 (产品号 #36750) 中, 制备 10 mL 消化液。预热至室温 (15 - 25°C)。
2. 将肺组织收集到装有含 2% 胎牛血清 (FBS) 的 PBS 的锥形管中。
3. 将肺组织转移到含有 10 mL 消化液的锥形管中, 并用剪刀将组织切碎成小块。在 37°C 摇床上孵育 20 分钟。
4. 将 70 μm 尼龙滤筛 (产品号 #27260) 放在 100 mm 培养皿 (产品号 #27110) 上, 并用注射器活塞的橡胶端将消化的肺组织推过滤筛, 以获得细胞悬液。
5. 将一个新的 70 μm 尼龙滤筛放在 50 mL 锥形管上, 并过滤细胞悬液。用推荐的缓冲液冲洗滤筛并将冲洗液收集在同一锥形管中。
6. 室温下, 300 x g 离心 10 分钟 (离心机刹车设置为低)。小心地弃去上清。
7. 将 20 mL 氯化铵溶液 (产品号 #07800) 添加到细胞沉淀中。在室温下孵育 5 分钟。
8. 用推荐缓冲液定容至 50 mL。室温下, 300 x g 离心 10 分钟 (离心机刹车设置为低)。小心地弃去上清。
9. 将细胞以  $1 \times 10^8$  细胞/mL 的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

### 淋巴结

收集淋巴结并转移到 70 μm 尼龙滤筛中 (放置在含有推荐缓冲液的 100 mm 培养皿 (产品号 #27110) 上)。用注射器活塞的橡胶端将淋巴结组织推过滤筛, 以获得细胞悬液。以 300 x g 离心 10 分钟, 然后使用推荐缓冲液以  $1 \times 10^8$  细胞/mL 的浓度重悬细胞。制备用于分选的样本时, 不建议使用氯化铵处理样本。

## 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  $Ca^{++}$ 、 $Mg^{++}$  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EasySep™的详细使用说明，请参阅表 1 和表 2。

表 1. EasySep™小鼠 Pan - ILC 富集试剂盒操作流程

		EASYSEPTM磁极
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	$1 \times 10^8$ 细胞/mL 0.3 - 1 mL 注：若起始样本少于 $5 \times 10^7$ 个细胞，请使用 0.3 mL 缓冲液重悬细胞。
	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)
2	在样本中加入富集抗体混合物。不要涡旋抗体混合物。	50 $\mu$ L/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育 5 分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	75 $\mu$ L/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育 5 分钟
5	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
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育 3 分钟
6	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。	使用新的 14 mL 流式管
7	从磁极中取出试管，并加入推荐缓冲液定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸 2 - 3 次来混匀。	定容至 2.5 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育 3 分钟
8	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。	与步骤 6 中倒出的细胞悬液合并 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。

表2.EasySep™小鼠 Pan - ILC 富集试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEPTM 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。	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.025 - 0.2 mL	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.3 - 1 mL 注：若起始样本少于 5 x 10 <sup>7</sup> 个细胞，请使用 0.3 mL 缓冲液重悬细胞。
	将样本添加到所需的试管中（若使用EasyPlate™ EasySep™磁极，将样本加到 96 孔板中）。	圆底，非TC处理的 96 孔板 (如产品号 #38018)	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38007)
2	在样本中加入富集抗体混合物。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 5 分钟	室温孵育 5 分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
4	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
5	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 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 10 分钟	室温孵育 3 分钟
6	小心地吸出**（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管或孔板。	使用新的 96 孔板， 分选后的细胞可直接用于下游应用	使用新的 14 mL流式管
7	从磁极中取出试管，并加入推荐缓冲液定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸 2 - 3 次来混匀。	---	定容至 2.5 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	---	室温孵育 3 分钟
8	小心地吸出**（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管。	---	与步骤 6 中吸出的细胞悬液合并， 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（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

ILCs的表型为CD45 阳性、谱系阴性（谱系特异性标记见下方）和CD127 阳性。

注：ILCs不同亚型特征如下：ILC1s为CD278-CD117-，ILC2s为CD278+CD117+/-，ILC3s为CD278-CD117+。要通过流式细胞术评估ILCs的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

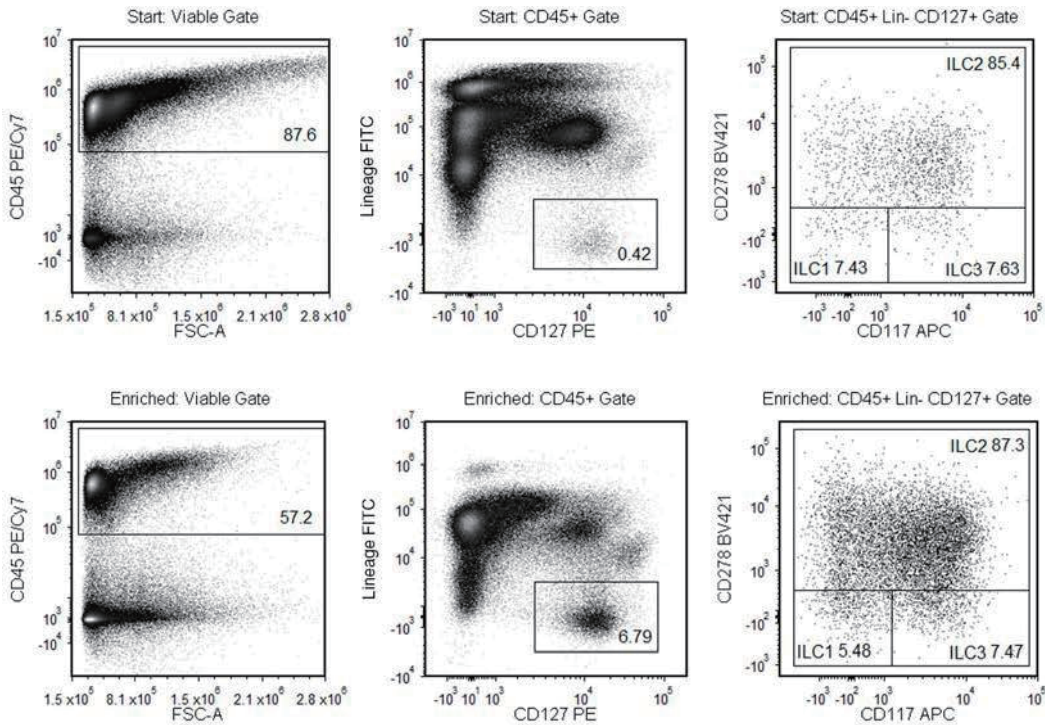
- 抗小鼠CD45 抗体，克隆 30-F11（产品号 #60030），以及
- 抗小鼠CD278（ICOS）抗体，克隆C3.98.4A，以及
- 抗小鼠CD127 抗体，克隆A7R34，以及
- 抗小鼠CD117（c - Kit）抗体、克隆2B8，以及
- 抗小鼠谱系特异性抗体（见下方）

对于谱系特异性抗原标记，请使用以下荧光偶联抗体克隆：

- 抗小鼠CD3e抗体，克隆 145-2C11（产品号 #60015），以及
- 抗小鼠CD11b抗体，克隆M1/70（产品号 #60001），以及
- 抗小鼠CD11c抗体，克隆N418（产品号 #60002），以及
- 抗小鼠CD19 抗体，克隆 1D3（产品号 #60112），以及
- 抗小鼠Gr-1 抗体，克隆RB6-8C5（产品号 #60028），以及
- 抗小鼠TER119 抗体，克隆TER-119（产品号 #60033），以及
- 抗小鼠TCR  $\beta$  链抗体，克隆H57-597，以及
- 抗小鼠TCR Gamma/Delta抗体，克隆GL3（产品号 #60104）

## 实验数据

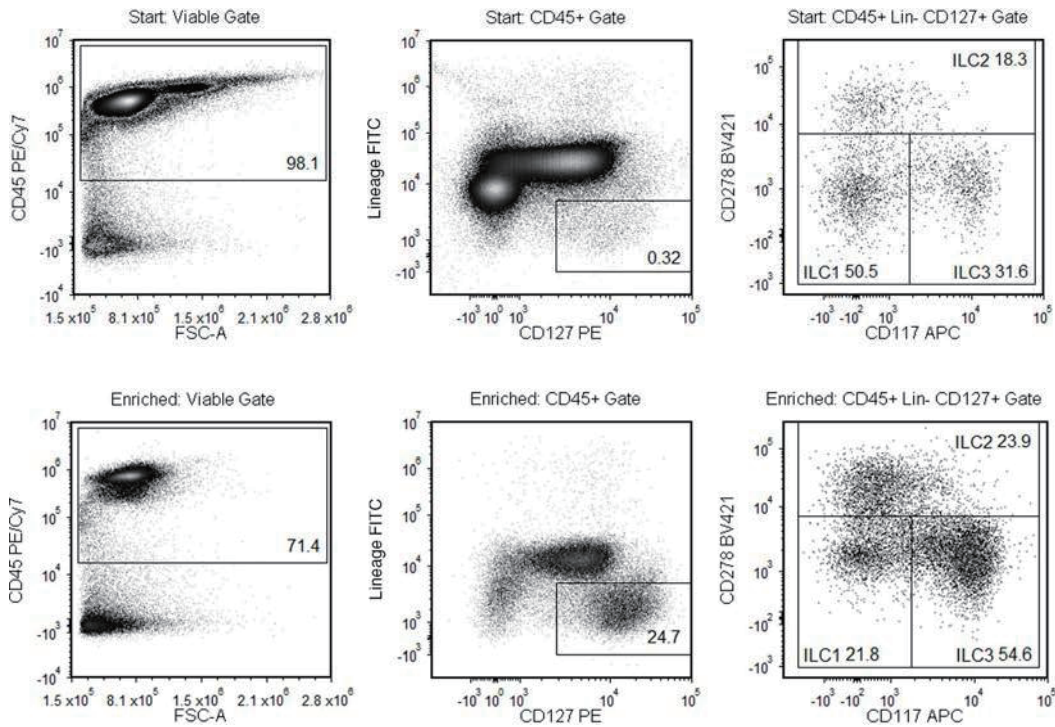
### A 肺



起始样本为naïve小鼠肺单细胞悬液，富集后的总ILC含量（CD45+Lin-CD127+）通常为 3.1 - 7.6%。在上述实验中，起始样本和富集后的ILCs纯度分别为 0.4% 和 3.9%（在CD45+细胞中分别为 0.4% 和 6.8%）。

注：起始样本中的ILC含量通常为0.3 - 0.6%。

## B 淋巴结



起始样本为naive小鼠淋巴结单细胞悬液，富集后的总ILC含量（CD45+Lin-CD127+）通常为 21.1 - 45.2%。在上述实验中，起始样本和富集后的ILCs纯度分别为 0.3% 和 17.6%（在CD45+细胞中分别为 0.3%和 24.7%）。

注：起始样本中的ILC含量通常为 0.3 - 0.4%。

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](http://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。所有商标为各自所有者所有。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。