

EasySep™小鼠 CD117 (cKIT) 正选试剂盒

可处理 2×10^9 个细胞

产品号 #18757

产品号 #18757RF RoboSep™

正选

文档号 #1000035825 | 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骨髓中分离高纯度的CD117+ (cKIT+) 细胞。当使用其它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、快速
- 纯度高达95%
- 无需分离柱

该试剂盒通过识别CD117表面标志物的抗体来正选CD117+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、培养或DNA/RNA提取。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™小鼠CD117 (cKIT) PE标记试剂	18757C.1	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和< 0.1% 叠氮化钠的PBS中的单克隆抗体混合物，包含Fc受体阻断抗体。
EasySep™ PE正选抗体混合物	18151	2 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™ Dextran RapidSpheres™ 50100磁珠	50100	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

骨髓

使用配备23G针头的注射器和推荐的缓冲液将股骨和胫骨中的骨髓细胞冲洗出来。用注射器轻柔地吹吸细胞悬液数次以分散细胞团块。或者可使用研钵和研杵将骨髓从骨头中压出。使用70 μm 细胞滤筛过滤细胞悬液，以去除残余的聚团和碎片。以300 x g离心10分钟，并以 1×10^8 有核细胞/mL的浓度重悬细胞于推荐缓冲液。

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），RoboSep™缓冲液（产品号 #20104）；或者含2%胎牛血清（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™小鼠 CD117 (cKIT) 正选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEPTM 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。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.1 - 2 mL 注：对于少于1 x 10 ⁷ 个细胞的样本，重悬至 0.1 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 8.5 mL 注：对于少于2.5 x 10 ⁷ 个细胞的样本，重悬至 0.25 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	将标记试剂添加到样本中。 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15分钟	室温孵育15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。	70 µL/mL 样本	70 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育15分钟	室温孵育15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。	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
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	<ul style="list-style-type: none"> 若样本 < 4 mL，定容至5 mL 若样本 ≥ 4 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
7	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
8	重复以上步骤。	重复三次步骤6和7 (总共进行4次5分钟的分选)	重复三次步骤6和7 (总共进行4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。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

使用指南 – RoboSep™全自动实验流程

请参阅第1页了解样本制备和推荐缓冲液。有关RoboSep™的详细使用说明，请参阅表2。

表2. RoboSep™小鼠CD117 (cKIT) 正选试剂盒操作流程

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 0.5 - 8.5 mL 注：对于少于5 x 10 ⁷ 个细胞的样本，重悬至0.5 mL	
	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)	
2	选择实验程序。	小鼠CD117 (cKIT) 正选 18757 - 高纯度	
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	
4	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	
5	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	

注意事项和提示

纯度评估

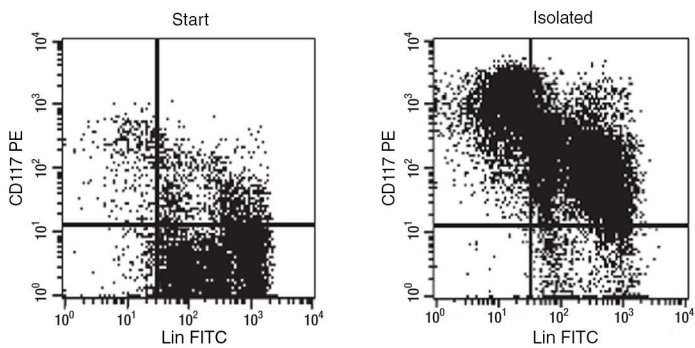
正选的细胞已被PE (phycoerythrin) 标记, 因此可以通过流式细胞术直接评估纯度。如果需要谱系特异性抗原标记, 请使用以下荧光偶联抗体:

- 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CD19抗体, 克隆6D5 (产品号 #60006), 以及
- 抗小鼠CD45R抗体, 克隆RA3-6B2 (产品号 #60019), 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)

技术提示

小鼠的造血干细胞 (HSCs) 和与之密切相关的原始祖细胞与造血组织中的大多数细胞不同, 它们没有表达成熟血细胞的特异标记 (即 CD3、CD11b、CD45R (B220)、Gr-1、TER119)。在许多小鼠品系中, HSCs对SCA1 (Ly-6A/E) 和cKit (CD117) 呈阳性 (Lin-SCA1+cKit+表型; Spangrude et al. 1988; Uchida & Weissman)。更成熟的红系、髓系和巨核细胞祖细胞也是Lin-和cKit+表型, 但SCA1呈阴性 (Lin-SCA1-cKit+表型) (Akashi et al.)。使用EasySep™小鼠造血祖细胞分选试剂盒 (产品号 #19856) 去除Lin+细胞, 或使用EasySep™正选SCA1+或cKit+细胞, 均可显著富集各类细胞亚群。

实验数据



起始样本为小鼠骨髓细胞, 分选后的细胞中CD117+细胞含量通常可达88 - 95%。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18.9%和92.8%。造血干细胞存在于Lin-SCA1+CD117+细胞群中 (请参阅注意事项和提示获取更多信息)。

参考文献

- Akashi K et al. (2000) A clonogenic common myeloid progenitor that gives rise to all myeloid lineages. *Nature* 404(6774): 193–7.
- Spangrude GJ et al. (1988) Purification and characterization of mouse hematopoietic stem cells. *Science* 241(4861): 58–62.
- Spangrude GJ & Brooks DM. (1993) Mouse strain variability in the expression of the hematopoietic stem cell antigen Ly-6A/E by bone marrow cells. *Blood* 82(11): 3327–32.
- Uchida N & Weissman IL. (1992) Searching for hematopoietic stem cells: evidence that Thy-1.1^{lo} Lin⁻ Sca-1⁺ cells are the only stem cells in C57BL/Ka-Thy-1.1 bone marrow. *J Exp Med* 175(1): 175–84.

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、EasySep、RoboSep和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。所有商标为各自所有者所有。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。