

EasySep™人 CD56 正选试剂盒II

可处理 5×10^7 个来源于肌细胞培养物的细胞

产品号 #17855

正选

文档号 #1000035852 | 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，在短至24分钟内从新鲜或冻存的人肌细胞培养物（成肌细胞和成纤维细胞）中分离出高纯度的CD56+细胞。

- 操作简单、快速
- 纯度高达95%
- 无需分离柱

该试剂盒使用识别CD56表面标志物的抗体来正选CD56+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。

- 本产品说明书（PIS）适用于从人肌细胞培养物中分离CD56+细胞。如果处理人外周血或白细胞单采术样本，请查阅适用的PIS（文档号1000035821）。

包含组分

| 组分名称 | 组分号# | 规格 | 储存方式 | 效期 | 成分 |
|--|--------|----------|-----------------|-----------|---|
| EasySep™人CD56正选抗体混合物II | 17855C | 1 x 1 mL | 2 - 8°C 储存，勿冷冻。 | 具体效期请见标签。 | 保存在含0.09% rHA的PBS中的单克隆抗体混合物，包含Fc受体阻断抗体。 |
| 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。 |

PBS - 磷酸盐缓冲液；rHA - 重组人白蛋白

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

肌细胞培养物

可以使用MyoCult™-SF扩增添加物试剂盒（人；产品号 #05980）从人骨骼肌组织中建立肌细胞培养。如需完整说明，请参考适用的PIS，您可通过网站 www.stemcell.com 或直接联系我们获取。

或者可以使用Aglely CC et al.和Soriano-Arroquia A et al.¹⁻²发表的方法建立人骨骼肌细胞培养。制备完成后，使用推荐缓冲液以 5×10^6 个细胞/mL的浓度重悬细胞。

外周血或白细胞单采术样本

如需处理外周血或白细胞单采术样本，请查阅适用的PIS（文档号 #1000035821）。

推荐缓冲液

EasySep™缓冲液（产品号 #20144），或者含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页了解样本制备和推荐缓冲液。有关每种磁极的详细使用说明，请参阅表1。

表1.EasySep™人 CD56 正选试剂盒II操作流程

| | | EasySep™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。 | 5 x 10 ⁶ 细胞/mL 0.2 - 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) |
| 2 | 在样本中加入分选抗体混合物。 注意: 不要涡旋抗体混合物。 | 100 μL/mL 样本 |
| | 混匀并孵育。 | 室温孵育10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。 | 50 μL/mL 样本 |
| | 混匀并孵育。 | 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 |
| 7 | 重复以上步骤。 | 重复两次步骤5和6 (总共进行3次3分钟的分选) |
| 8 | 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 |

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。不要摇晃或者擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

注意事项和提示

纯度评估

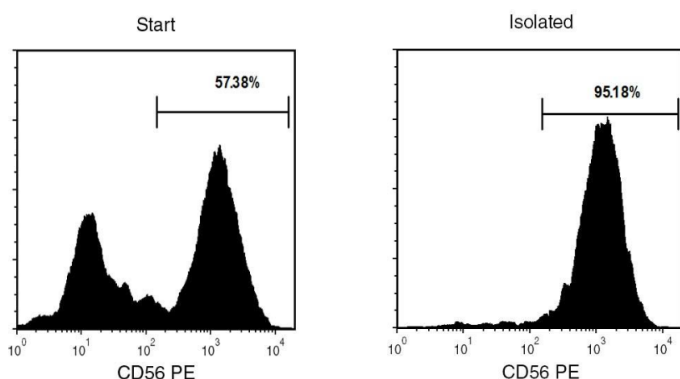
要通过流式细胞术评估CD56+细胞的纯度，请使用以下克隆号的荧光偶联流式抗体：

- 抗人CD56抗体，克隆HDC56（产品号 #60021；部分阻断），或
- 抗人CD56抗体，克隆CMSSB（部分阻断），或
- 抗人CD56抗体，克隆NCAM16.2（部分阻断）

还可以使用以下方法：

- 使用荧光二抗，例如山羊抗小鼠Ig (H+L) 多克隆抗体 (产品号#60138)。

实验数据



起始样本为来源于肌肉组织并培养5 - 10天后的肌细胞培养物，分选后的CD56+细胞含量通常可达 $95 \pm 4.3\%$ （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57.38%和95.18%。

参考文献

1. Agle CC et al. (2015) Isolation and quantitative immunocytochemical characterization of primary myogenic cells and fibroblasts from human skeletal muscle. *J Vis Exp* (95): 52049.
2. Soriano-Arroquia A et al. (2017) Preparation and culture of myogenic precursor cells/primary myoblasts from skeletal muscle of adult and aged humans. *J Vis Exp* (120): e55047.