

EasySep™小鼠 ILC2 富集试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #19842

负选

文档号 #10000035857 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

通过免疫磁珠负选从小鼠肺脏中富集无磁珠标记的2型先天淋巴细胞 (ILC2s)。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
- 富集得到的细胞不带标记
- 便于快速流式分选ILC2s

该试剂盒通过使用识别细胞特异性表面标志物的生物素化抗体来去除非ILC2s细胞。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。富集的ILC2s细胞可立即用于下游应用，例如流式细胞检测和流式分选。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ 小鼠ILC2富集抗体混合物	19842C	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PBS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。为了获得最佳的回收率，建议处理足量的肺组织以得到至少 1.5×10^7 个细胞

1. 将1 mL胶原酶/透明质酸酶（产品号 #07912）和1.5 mL DNase I溶液（1 mg/mL；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）。
注意：如果起始样本超过10个肺脏，请相应调整体积。
2. 将肺组织收集到含有PBS和2%胎牛血清（FBS）的试管中。
3. 将肺组织转移到一个空的培养皿中。用刀片或手术刀切碎成均匀的糊状（小于1 mm）。
4. 将切碎的肺组织转移到装有10 mL消化液的试管中，在37°C摇床上孵育20分钟。
5. 将70 μm细胞滤筛放在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。
6. 将一个新的70 μm细胞滤筛放在50 mL锥形管（如产品号 #38010）上，过滤细胞悬液。用推荐缓冲液冲洗滤筛。
7. 室温下，300 x g离心6分钟（离心机刹车设置为低）。小心地弃去上清。
8. 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。
9. 用推荐缓冲液定容至50 mL。室温下，300 x g离心6分钟（离心机刹车设置为低）。小心地弃去上清。
10. 将细胞以 1×10^8 细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

注：若起始样本少于 3×10^7 个细胞，请以 5×10^7 细胞/mL的浓度重悬细胞。


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⁺⁺、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。

表1. EasySep™ 小鼠ILC2富集试剂盒操作流程

		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。	1×10^8 细胞/mL 0.3 - 1 mL 注：若起始样本少于 3×10^7 个细胞，请以 5×10^7 细胞/mL 的浓度重悬细胞*
	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。	50 μ L/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟
3	涡旋RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒
4	将RapidSpheres™磁珠加入到样本中。	75 μ L/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)

* 起始样本细胞浓度不建议低于 5×10^7 细胞/mL。

**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。

注意事项和提示

纯度评估

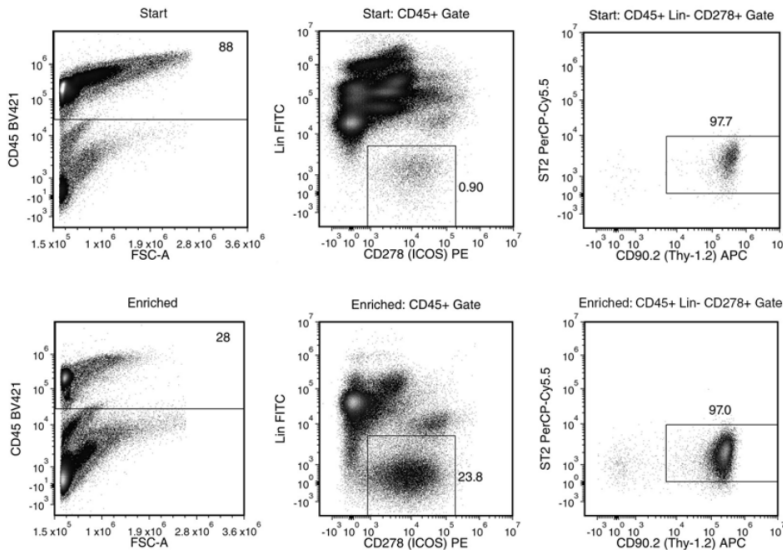
ILC2s的表型为CD45阳性，谱系（CD3、CD4、CD11b、CD11c、CD19、NK1.1、Gr-1、TER119、TCR beta、TCR gamma/delta）阴性、CD278（ICOS）阳性、CD90.2（Thy-1.2）阳性、CD127 阳性以及ST2阳性。要通过流式细胞术评估ILC2s的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗小鼠CD45抗体，克隆30-F11（产品号 #60030），以及
- 抗小鼠CD90.2（Thy-1.2）抗体，克隆53-2.1（产品号 #60115），以及
- 抗小鼠CD278（ICOS）抗体，克隆C3.98.4A，以及
- 抗小鼠ST2抗体，克隆号DIH9，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：

- 抗小鼠CD3e抗体，克隆145-2C11（产品号 #60015），以及
- 抗小鼠CD4抗体、克隆号H129.19，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NK1.1（CD161）抗体，克隆PK136（产品号 #60103），以及
- 抗小鼠TER119抗体，克隆TER-119（产品号 #60033），以及
- 抗小鼠TCR β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



起始样本为naïve小鼠肺单细胞悬液，富集后的ILC2含量（CD45+Lin-CD278+CD90.2+ST2+）通常为2.2 - 7.1%。在上述实验中，起始样本和分选后的ILC2纯度分别为0.8%和6.5%（在CD45+细胞中分别为0.9%和22.3%）。

注：起始样本中的ILC2含量通常为0.1 - 1%。

STEMCELL Technologies Inc.的质量管理体系已经过ISO 13485认证。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。

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，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。