

## EasySep™小鼠浆细胞样 DC 分选试剂盒

可处理  $2 \times 10^9$  个细胞

产品号 #19764

#19764RF RoboSep™

负选

文档号 #1000035858 | 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脾脏组织中分离无磁珠标记和高纯度的浆细胞样DC细胞 (pDCs; PDCA-1+CD11c+)。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
- 纯度高达94%
- 分选得到的细胞不带标记

该试剂盒通过使用识别非浆细胞样DC细胞 (non-pDCs) 表面标志物的生物素化抗体来去除非浆细胞样DC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。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™小鼠浆细胞样DC分选抗体混合物	19764C	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的PBS中的单克隆抗体混合物，包含Fc受体阻断抗体。
EasySep™生物素分选抗体混合物	19153	2 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ D2 Magnetic Particles	19650	4 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在TBS中的磁珠悬浮液。

BSA - 牛血清白蛋白; PBS - 磷酸盐缓冲液; TBS - Tris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

#### 脾脏

在含有2%胎牛血清 (FBS) 的PBS或Hanks平衡盐溶液中机械解离脾脏。使用70 μm 尼龙滤筛过滤细胞悬液，以去除聚团和碎片。以 300 x g 离心10分钟，然后使用推荐缓冲液以  $1 \times 10^8$  有核细胞/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)，RoboSep™ 缓冲液 (产品号 #20104) 或含有2% FBS和1 mM EDTA的PBS。HBSS，调整配方 (不含Ca<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>; 产品号 #37250) 可用于代替PBS。缓冲液应该不含Ca<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>。

## 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™ 小鼠浆细胞样 DC 分选试剂盒操作流程

		EASYSEPTM 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。	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.5 - 2 mL	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.5 - 8.5 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: Corning 产品号 #352058)	14 mL (17 x 100 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: Corning 产品号 #352057)
2	在样本中加入分选抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C 下孵育15分钟	在2 - 8°C 下孵育15分钟
3	使用推荐的缓冲液加满试管以清洗细胞。	300 x g 离心10分钟	300 x g 离心10分钟
	弃去上清液，并按起始样本体积重悬细胞。	0.5 - 2 mL	0.5 - 8.5 mL
4	在样本中加入生物素分选抗体混合物。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C下孵育10分钟	在2 - 8°C下孵育10分钟
5	涡旋磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
6	将磁珠加入到样本中。	37.5 µL/mL 样本	37.5 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	在2 - 8°C 下孵育10分钟	在2 - 8°C 下孵育10分钟
7	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	· 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
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至一个新的试管中。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管
9	涡旋磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
10	将磁珠加入到含有富集的细胞悬液的新试管中。	7 µL	· 若样本 ≤ 4 mL，添加25 µL · 若样本 > 4 mL，添加50 µL
	混匀并孵育。	在2 - 8°C下孵育5分钟	在2 - 8°C下孵育5分钟
11	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
12	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。	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™ 小鼠浆细胞样 DC 分选试剂盒操作流程

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 <sup>8</sup> 细胞/mL 1 - 8 mL	
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 100 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: Corning 产品号 #352057)	
2	在样本中加入分选抗体混合物。	50 µL/mL 样本	
	混匀并孵育。	在 2 - 8°C 下孵育15分钟	
3	使用推荐的缓冲液加满试管以清洗细胞。	300 x g 离心10分钟	
	弃去上清液，并按起始样本体积重悬细胞。	1 - 8 mL	
4	选择实验程序。	对于体积 ≤ 4 mL 的样本，小鼠浆细胞样DC负选 19764 - 小体积 对于体积 > 4 mL 的样本，小鼠浆细胞样DC负选 19764 - 大体积	
5	涡旋磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	
6	加载转盘。	根据屏幕上的提示操作 注：该实验程序单次运行需要在转盘上放置两管EasySep™ D2 Magnetic Particles磁珠 (产品号 #19650)	
	启动实验程序。	按下绿色的“Run (运行)”按钮	
7	运行完成后，卸载转盘。取出装有分选细胞的试管。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

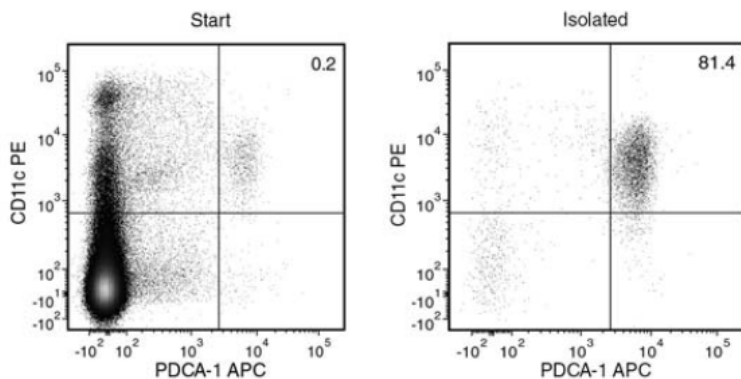
## 注意事项和提示

### 纯度评估

要通过流式细胞术评估pDC (PDCA-1+CD11c+) 的纯度，请使用以下荧光流式抗体：

- 抗小鼠CD11c抗体，克隆N418 (产品号 #60002)，以及
- 抗小鼠PDCA-1抗体

## 实验数据



起始样本为小鼠脾脏细胞，富集后的pDC (PDCA-1+CD11c+) 细胞含量通常可达62 - 94%。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为0.2%和81.4%。

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和RoboSep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。