

RosetteSep™人祖细胞基础预富集试剂盒

产品号 #15226 2 x 2.5 mL 可处理1000 mL 脐带血
产品号 #15266 10 x 2.5 mL 可处理5000 mL 脐带血



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

文档号 #10000035868 | 版本00

产品介绍

通过负选直接从人脐带血中富集无标记的造血祖细胞。

- 操作简单、快速
- 不需要特殊设备或培训
- 获得不带标记的活细胞
- 可与SepMate™结合使用，实现一致且高通量的样本处理

该试剂盒通过使用识别特异性细胞表面标志物的抗体来去除非造血祖细胞。RosetteSep™抗体混合物将人脐带血中的非目的细胞与多个红细胞（RBCs）交联，形成免疫玫瑰花结。玫瑰花结使其中非目的细胞的密度增加，从而在使用密度梯度离心液进行离心时，非目的细胞会与游离的红细胞一起沉淀。目的细胞不被抗体标记，并且高度富集的目的细胞群可从血浆层和密度梯度离心液层之间轻松收集。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
RosetteSep™人祖细胞基础预富集抗体混合物	15226C	2 x 2.5 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。

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。

抗体混合物中可能会观察到沉淀，但不会影响使用效果。

样本制备

有关可用的冻存样本，请参见 www.stemcell.com/primarycells。

脐带血

为达到最佳效果，请使用24小时内采集并在室温（15 - 25°C）下储存的脐带血。使用70 μm细胞滤筛过滤脐带血去除聚团。若想要更快的RosetteSep™处理流程，该产品可与SepMate™ RUO（产品号 #86450/86415）或SepMate™ IVD*（产品号 #85450/85415）细胞分选管结合使用。有关SepMate™的更多信息，请参阅相关的产品说明书。

如果使用SepMate™处理血细胞比容超出正常范围的样本，请注意红细胞压积需要满足最小值。详见下表。

	SEPMATE™ - 15	SEPMATE™ - 50
样本体积范围	0.5 - 5 mL	4 - 17 mL
最小红细胞压积	0.25 mL	2 mL
最大红细胞压积	3 mL	12 mL

- 对于低血细胞比容的样本，最小样本体积可能大于上述的最小体积。
- 对于血细胞比容非常高的样本，最大样本体积可能小于上述的最大体积。

*SepMate™ (IVD) 在特定地区作为体外诊断设备使用，其预期用途是通过密度梯度离心法从全血或骨髓中分离单个核细胞（MNCs）。SepMate™在符合21 CFR 820标准的cGMP质量管理体系下生产。在其他所有地区，SepMate™仅限于研究用途（RUO）。

推荐缓冲液

含有2%胎牛血清（FBS）的Dulbecco's磷酸盐缓冲液（D-PBS）（产品号 #07905）。

密度梯度离心液

Lymphoprep™（产品号 #18060）或密度为1.077 g/mL的其它密度梯度离心液。

使用指南 – RosetteSep™实验流程

请参阅第1页了解样本制备和推荐缓冲液。

确保脐带血样本、推荐缓冲液、密度梯度离心液和离心机均处于室温（15 - 25°C）。有关使用SepMate™ - 15或SepMate™ - 50分选管的更多信息，请参阅适用的产品说明书。

表1. RosetteSep™人祖细胞基础预富集试剂盒操作流程

		RosetteSep™	
步骤	说明	常规离心管	SepMate™分选管
1	收集样本。	每管最多15 mL（参见表2）	每管 0.5 - 17 mL（参见表2）
2	在样本中加入RosetteSep™抗体混合物。	5 µL/mL 样本	5 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育5分钟
3	用推荐的缓冲液稀释样本并轻轻混合。	加入与样本等体积的缓冲液	加入与样本等体积的缓冲液
4	将密度梯度离心液添加到所需的试管中。	有关离心液体积和试管的信息，请参阅表2	有关离心液体积和试管的信息，请参阅表2
5	将稀释的样本添加到含有密度梯度离心液的试管中。	将稀释的样本小心铺在密度梯度离心液上层，尽量避免两层发生混合	将稀释后的样本倒入或使用移液管转移至试管中
6	离心。	1200 x g离心20分钟，关闭刹车	1200 x g离心10分钟，打开刹车 注：对于存放时间超过24小时的样本可能需要多离心10分钟
7	收集富集的细胞。 *有关去除血小板的信息，请参阅下面的注释。	用移液管收集富集的细胞层并转移至新的离心管中**	将上清液倒入新的常规离心管中 注：离心后，SepMate™插件的表面上可能会有一些红细胞。这不会影响使用效果
8	清洗富集的细胞。	用推荐缓冲液加满试管	用推荐缓冲液加满试管
9	离心。	300 x g离心8分钟，刹车设置为低	300 x g离心8分钟，刹车设置为低
		弃去上清液	弃去上清液
10	重复以上步骤。	步骤8和9*** 注：第二次清洗时，以120 x g离心10分钟	步骤8和9*** 注：第二次清洗时，以120 x g离心10分钟
11	每100 mL脐带血样本，用含有1 mM EDTA的推荐缓冲液重悬细胞。	富集后的细胞可立即用于下游应用	富集后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温（15 - 25°C）

* 如需尽量减少血小板污染，可在收集血浆层和密度梯度离心液层交界处的细胞之前，先吸除血浆层的上面三分之一血浆并弃去。或者在步骤9之后，室温下以120 x g离心10分钟（关闭刹车）来去除血小板。

** 有时很难看到交界处的细胞层。建议收集预富集的细胞同时也收集一部分密度梯度离心液，以确保完全回收细胞。

*** 在流式细胞术分析之前，或是有残留的红细胞会干扰后续检测时，两次清洗步骤中的一次可以使用氯化铵溶液（产品号 #07800）进行清洗。

表2. 推荐的离心管规格和液体体积

脐带血体积	推荐缓冲液体积	常规离心管		SEPMATE™分选管	
		试管规格	密度梯度离心液体积*	试管规格	密度梯度离心液体积*
0.5 mL	0.5 mL	5 mL	1.5 mL	15 mL	4.5 mL
1 mL	1 mL	5 mL	1.5 mL	15 mL	4.5 mL
2 mL	2 mL	14 mL	3 mL	15 mL	4.5 mL
3 mL	3 mL	14 mL	3 mL	15 mL	4.5 mL
4 mL	4 mL	14 mL	4 mL	15 mL / 50 mL	4.5 mL** / 15 mL
5 mL	5 mL	50 mL	15 mL	15 mL / 50 mL	3.5 mL / 15 mL
10 mL	10 mL	50 mL	15 mL	50 mL	15 mL
15 mL	15 mL	50 mL	15 mL	50 mL	15 mL
17 mL	17 mL	—	—	50 mL	15 mL

* 在移液后，密度梯度离心液中可能存在小气泡。这不会影响使用效果。

** 如果在SepMate™-15管中使用 > 4 - 5 mL的样本量，请使用3.5 mL密度梯度离心液。

注意事项和提示

g到RPM的转换

要将g转换为RPM，请使用以下公式：

$$RPM = \sqrt{\frac{RCF}{(1.118 \times 10^{-5}) \times (\text{Radius})}}$$

公式中： RCF = 相对离心力 (g)

RPM = 离心速度 (每分钟转数)

离心半径 (Radius) = 转子半径 (cm)

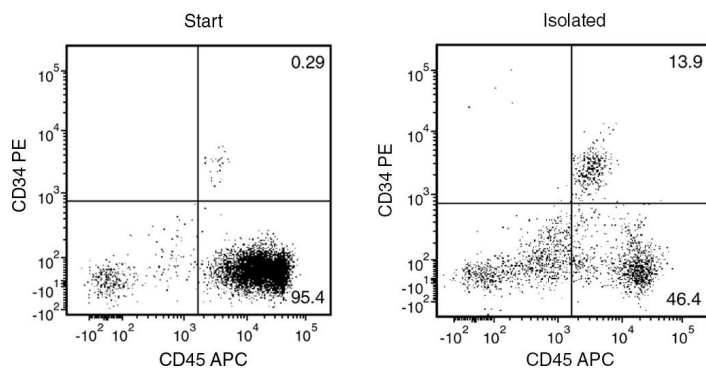
纯度评估

要通过流式细胞术评估脐带血祖细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD34抗体，克隆581 (产品号 #60013)， 或
- 抗人CD34抗体，克隆8G12 (产品号 #60121)， 以及
- 抗人CD45抗体，克隆HI30 (产品号 #60018)

注意：在进行流式细胞术分析前裂解红细胞。

实验数据



起始样本为新鲜的人脐带血，预富集后的细胞中CD34+CD45+活细胞的含量通常可达2 - 16%。在上述实验中，起始样本和富集后的目的细胞纯度分别为0.3%和13.9%。

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 & Design、STEMCELL Shield Design、Scientists Helping Scientists、RosetteSep和SepMate是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG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。