

RosetteSep™ 人间充质干细胞富集 抗体混合物



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品号 #15128 1 x 2 mL 可处理40 mL 骨髓
产品号 #15168 5 x 2 mL 可处理200 mL 骨髓

文档号 #1000035875 | 版本00

产品介绍

通过负选从新鲜人骨髓中富集无标记的间充质干细胞 (MSCs)。

- 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

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MSCs。RosetteSep™ 抗体混合物将人全血中的非目的细胞与多个红细胞 (RBC) 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™ 人间充质干细胞富集抗体混合物	15128C.1	2 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

骨髓

使用未处理的骨髓样本。

使用含亚甲基蓝的 3% 乙酸 (产品号 #07060) 对新鲜未处理的骨髓进行白细胞计数。

虽然RosetteSep™ 是针对全血或骨髓样本进行的优化，但如果其他来源的样本中 (如白膜层) 的红细胞与有核细胞的比例至少为100: 1，则也可以使用RosetteSep™ 进行细胞分选。样本中有核细胞的浓度不应超过 5×10^7 细胞/mL。

推荐缓冲液

EasySep™ 缓冲液 (产品号 #20144) 或者含2%胎牛血清 (FBS) 和1 mM EDTA的PBS。

密度梯度离心液

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

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。

确保骨髓样本、推荐缓冲液、密度梯度离心液和离心机均处于室温 (15 - 25°C)。

表1. RosetteSep™ 人间充质干细胞富集抗体混合物操作流程

步骤	说明	ROSETTESEPTM
1	收集样本。	每管最多 10 mL (参见表2)
2	在样本中加入 RosetteSep™ 抗体混合物。	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育 20 分钟
3	用推荐的缓冲液稀释样本并轻轻混合。	推荐缓冲液与样本的体积比为 2: 1 (参见表2)
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
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
6	离心。	300 x g 离心 25 分钟, 关闭刹车
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**
8	清洗富集的细胞。	用推荐缓冲液加满试管
9	离心。	300 x g 离心 10 分钟, 刹车设置为低
		弃去上清液
10	重复以上步骤。	步骤8和9***
11	将细胞重悬于推荐的缓冲液中。	富集后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

*为了最大化减少血小板污染, 可在收集细胞之前去除血浆液面上层的三分之一。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

骨髓体积	推荐缓冲液体积	试管规格	密度梯度离心液体积*
1 mL	2 mL	14 mL	5 mL
2 mL	4 mL	14 mL	5 mL
5 mL	10 mL	50 mL	15 mL
10 mL	20 mL	50 mL	15 mL

*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。

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：

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

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

可使用MesenCult™ 增殖试剂盒 (人：产品号 #05411) 或MesenCult™-ACF Plus培养基 (产品号 #05445) 进行集落形成单位 - 成纤维细胞 (CFU-F) 检测，以体外定量人MSCs。请参阅相关的产品说明书获取完整说明。

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和其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasySep、MesenCult和RosetteSep均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG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，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。