



RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Kit

REF 15272HLA For 20 tests (10 mL of whole blood per test)

Components:

RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail 5 x 2 mL
RosetteSep™ DM-M Density Medium 2 x 100 mL

ENGLISH

INTENDED USE

RosetteSep™ cell enrichment cocktails are designed for the in vitro enrichment of specific cell subsets from human whole blood.

PRODUCT DESCRIPTION

The RosetteSep™ antibody cocktail crosslinks unwanted cells in human whole blood to multiple red blood cells (RBCs), forming immunorosettes. This increases the density of unwanted (rosetted) cells, so that they pellet along with the free RBCs when centrifuged over RosetteSep™ DM-M (Catalog #15725). Desired cells are never labeled with antibody and are easily collected as a highly enriched population at the interface between the plasma and the density gradient medium.

RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail **REF** #15272HC.1

This cocktail contains a combination of mouse and rat monoclonal antibodies. These antibodies are bound in bispecific Tetrameric Antibody Complexes (TACs) which are directed against cell surface antigens on unwanted cells (CD3, CD8, CD19, CD56) and glycophorin A on red blood cells. The mouse monoclonal antibody subclass is IgG₁.

RosetteSep™ DM-M Density Medium **REF** #15725

RosetteSep™ DM-M is a density separation medium designed specifically for use with the RosetteSep™ cocktail for the enrichment of human myeloid (CD33⁺) cells.

Density: 1.085 g/mL

QUALITY CONTROL

RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail **REF** #15272HC.1

RosetteSep™ cell enrichment cocktails are manufactured using aseptic technique and tightly controlled processes.

Each lot of RosetteSep™ cell enrichment cocktail is sterility tested according to USP methods and Quality Control performance tested in cell separation assays using human whole blood.

RosetteSep™ DM-M Density Medium **REF** #15725

RosetteSep™ DM-M Density Medium is manufactured using aseptic technique and tightly controlled processes.

Each lot of RosetteSep™ DM-M Density Medium is sterility tested according to USP methods.

STORAGE AND STABILITY

RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail **REF** #15272HC.1

Store at 2 - 8°C. This product may be shipped at 15 - 25°C, but should be refrigerated upon receipt. Do not freeze. Product stable at 2 - 8°C until expiry date as indicated on label.

RosetteSep™ DM-M Density Medium **REF** #15725

Store at 15 - 25°C. Storage at 2 - 8°C is acceptable, but ensure that the medium equilibrates to 15 - 25°C and invert bottle to mix contents before use. Keep protected from direct light. Product stable at 15 - 25°C until expiry date as indicated on label.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. For professional users only.
2. This product is for in vitro diagnostic use.
3. Do not use cocktail or density medium if vial contents have leaked. Unused cocktail or density medium may be disposed of according to standard laboratory procedures for non-hazardous liquids.
4. This product should be handled by trained personnel observing good laboratory practices. Once this product is added to human cells, treat the suspension as potentially biohazardous. Handling of reagents and disposal of wastes should observe all local, state, or national regulations.
5. This product is a potential irritant to eyes, respiratory system, and skin. This product may also be harmful if ingested. Avoid exposure through skin, eye contact, inhalation, and ingestion.

SPECIAL MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) solution

0.5 M EDTA solution (e.g. Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt solution, 0.5M, Catalog #E7889 from Sigma).

Recommended Medium

Phosphate Buffered Saline with 2% fetal bovine serum (PBS + 2% FBS, Catalog #07905), both with and without 1 mM EDTA.

To make PBS + 2% FBS + 1 mM EDTA, add 1 mL of 0.5 M EDTA to 499 mL of PBS + 2% FBS.



STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.2.1

2015

Page 1 of 15

HANDLING AND DIRECTIONS FOR USE

Ensure that blood sample, recommended medium both with and without EDTA, (see Special Materials Required but not Provided), RosetteSep™ DM-M Density Medium and centrifuge are all at room temperature (15 - 25°C).

1. Aliquot 10 mL of whole blood into a 50 mL tube. If desired, retain a small aliquot of blood (500 µL) for flow cytometric analysis of the start sample.
2. Add RosetteSep™ HLA Cocktail at **50 µL/mL** of whole blood (e.g. for 10 mL of whole blood, add 500 µL of cocktail). Mix well.
3. Incubate **20 minutes** at room temperature (15 - 25°C).
4. Dilute sample with an equal volume of PBS + 2% FBS with EDTA and mix gently.
5. Layer the diluted sample on top of 10 mL of RosetteSep™ DM-M Density Medium (Catalog #15725).

Be careful to minimize mixing of density gradient medium and sample.

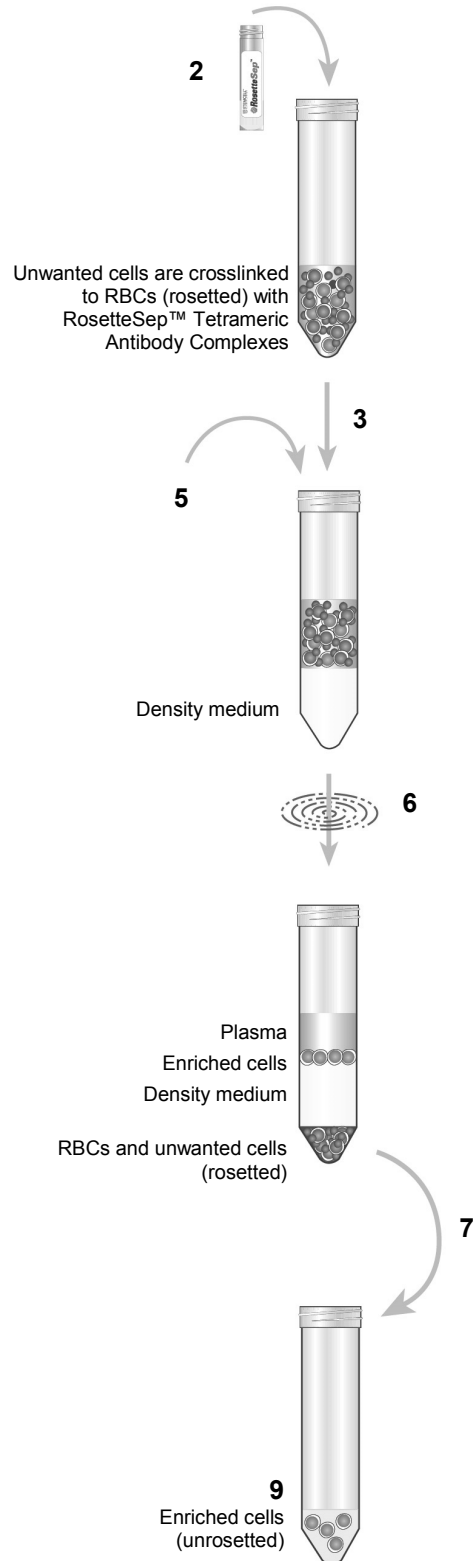
6. Centrifuge for **25 minutes** at 330 x g (see Notes) at room temperature (15 - 25°C) with the brake off.
7. Remove the enriched cells from the RosetteSep™ DM-M Density Medium : plasma interface.

Note: It is sometimes difficult to see the cells at the interface, especially when very rare cells are enriched. It is advisable to remove some of the density gradient medium along with the enriched cells in order to ensure optimal recovery.

8. Wash enriched cells with PBS + 2% FBS.
9. Use enriched cells as desired. If you wish to evaluate the cell purity by flow cytometry, we recommend lysing enriched samples with ammonium chloride to remove residual RBCs (this can be done as the wash step).

ROSETTESEP™ PROCEDURE

Numbers refer to steps in Handling and Directions for Use.



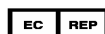
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.2.1

2015

NOTES

Density Medium

RosetteSep™ DM-M Density Medium has been formulated to optimize myeloid cell recovery. Using a different density medium may cause cell loss.

Conversion of g to RPM

To convert g to rpm, use the following formula:

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

Where: RPM = centrifuge speed in revolutions per minute

RCF = relative centrifugal force (g)

Radius = radius of rotor (cm)

Assessing Purity

Purity of myeloid (CD33⁺) cells can be measured by flow cytometry after staining with a fluorochrome-conjugated anti-CD33 antibody (e.g. PE anti-CD33, Catalog #10536) or a combination of other myeloid cell specific antibodies.

To reduce non-specific antibody binding, add normal human serum to all flow cytometry samples (start and enriched) prior to the addition of the antibody stain, at a concentration of 2 µL human serum/100 µL cells.

Typical Results

These results are for illustrative purposes only. They were obtained using samples from normal, healthy adults. Results from individual patient samples may vary.

CATALOG #	CELL TYPE ENRICHED	PURITY
15272HLA	Myeloid Cells (CD33 ⁺)	> 85%

TECHNICAL ASSISTANCE

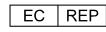
For technical support please contact us by email at techsupport@stemcell.com or call either +1.604.877.0713 or the European Toll-Free number 00800 7836 2355. For more information please visit www.stemcell.com.

If you require a printed copy or a translated version of this document in a certain language please contact technical support.

 MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover, Germany

 Catalog or reference number	 Batch code	 Use by: YYYY-MM
 Caution, consult accompanying documents	 In Vitro Diagnostic Medical Device	 For storage within temperature limits
 CE Mark	 Manufacturers identification (name & address)	 Authorized EC representative in the European Community



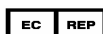
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.2.1

2015

FRANÇAIS

RosetteSep™ HLA Kit d'Enrichissement en Cellules Myéloïdes

REF 15272HLA Pour 20 tests (10 mL de sang total par test)
Composants :
RosetteSep™ HLA Cocktail d'Enrichissement en Cellules Myéloïdes 5 x 2 mL
Milieu de Gradient de Densité DM-M RosetteSep™ 2 x 100 mL

UTILISATION CONSEILLÉE

Les cocktails d'enrichissement en cellules RosetteSep™ sont destinés à l'enrichissement in vitro de sous-populations de cellules spécifiques tirées de sources de sang total humain.

COMPOSITION

Le cocktail d'anticorps RosetteSep™ permet la liaison des cellules indésirables du sang total humain aux globules rouges (GR), formant ainsi des rosettes. Ces dernières augmentent la densité des cellules indésirables (rosettes), de sorte à former un culot avec les GR libres lorsqu'elles sont centrifugées par milieu de gradient de densité DM-M RosetteSep™ (Référence N° 15725). Les cellules d'intérêt fortement enrichies par cette méthode ne sont jamais marquées par un anticorps et sont facilement collectées à l'interface entre le plasma et le milieu de gradient de densité.

RosetteSep™ HLA Cocktail d'Enrichissement en Cellules Myéloïdes **REF** N° : 15272HC.1

Ce cocktail contient une combinaison d'anticorps monoclonaux de souris et de rat. Ces anticorps sont liés de façon à former des complexes anticorps tétramériques (TACs) bispécifiques dirigés contre les antigènes de surface cellulaire des cellules non désirées (CD3, CD8, CD19, CD56) et la Glycophorin A des globules rouges. Les anticorps monoclonaux de souris utilisés sont de sous type IgG₁.

Milieu de Gradient de Densité DM-M RosetteSep™ **REF** N° : 15725

Le milieu de gradient de densité DM-M RosetteSep™ est un milieu permettant une séparation sur gradient de densité, ce produit est spécialement conçu pour une utilisation avec le cocktail RosetteSep™ dans le cadre de l'enrichissement de cellules myéloïdes humaines (CD33⁺).

Densité: 1,085 g/mL

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Cocktail d'enrichissement en cellules myéloïdes HLA RosetteSep™ **REF** N° : 15272HC.1

Les cocktails d'enrichissement en cellules RosetteSep™ sont fabriqués en utilisant des techniques aseptiques au moyen de processus strictement contrôlés.

Chaque lot de cocktail d'enrichissement RosetteSep™ est testé pour la stérilité selon les méthodes USP, ainsi qu'un test de performance d'isolation cellulaire sur sang total humain et de contrôle qualité.

Milieu de Gradient de Densité DM-M RosetteSep™ **REF** N° : 15725

Le milieu de gradient de densité DM-M RosetteSep™ est fabriqué en milieu stérile au moyen de processus strictement contrôlés et avec des composants pré-testés.

Chaque lot de milieu de gradient de densité DM-M RosetteSep™ est testé pour la stérilité selon les méthodes USP.

CONSERVATION ET STABILITÉ

RosetteSep™ HLA Cocktail d'Enrichissement en Cellules Myéloïdes **REF** N° : 15272HC.1

Conservation à 2 - 8°C. Ce produit peut être transporté à 15 - 25°C, mais doit être réfrigéré dès réception. Ne pas congeler. Produit stable à 2 - 8°C jusqu'à sa date d'expiration, comme indiqué sur l'étiquette.

Milieu de Gradient de Densité DM-M RosetteSep™ **REF** N° : 15725

Conservation à 15 - 25°C. La conservation à 2 - 8°C est acceptable, mais vérifier que le support s'équilibre à 15 - 25°C et retourner la bouteille afin de mélanger le contenu avant utilisation. Protéger de la lumière directe. Produit stable à 15 - 25°C jusqu'à sa date d'expiration, comme indiqué sur l'étiquette.

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

1. Réservé aux professionnels.
2. Réservé à un usage de diagnostic in vitro.
3. Ne pas utiliser le cocktail ou le milieu de gradient de densité en cas de fuite du contenu des flacons. Tout cocktail inutilisé ou milieu de gradient de densité inutilisé doit être jeté conformément aux procédures de laboratoire standards relatives aux liquides non dangereux.
4. Ce produit doit être manipulé par du personnel qualifié selon les bonnes pratiques de laboratoire. Une fois ce produit ajouté aux cellules humaines, la suspension doit être considérée comme potentiellement un danger biologique. La manipulation des réactifs et l'élimination des déchets doivent respecter l'ensemble de la réglementation locale, étatique ou nationale.
5. Ce produit est potentiellement irritant pour les yeux, le système respiratoire et la peau. Ce produit peut également être dangereux en cas d'ingestion. Éviter toute exposition cutanée, contact avec les yeux, l'inhalation et l'ingestion.



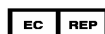
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.2.1

2015

Page 4 of 15

MATERIEL SPECIAL NÉCESSAIRE NON FOURNI

Solution d'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA)

Solution EDTA 0,5 M (par ex. : solution de sel disodique de l'acide éthylènediaminotétraacétique, 0,5 M, Référence N° E7889 de Sigma).

Milieu recommandé

Tampon phosphate salin avec 2% de sérum fœtal bovin (PBS + 2% FBS, Référence N° 07905) avec ou sans 1 mM d'EDTA.

Pour réaliser du PBS + 2% FBS + 1 mM EDTA, ajouter 1 mL de 0,5 M EDTA à 499 mL de PBS + 2% FBS.

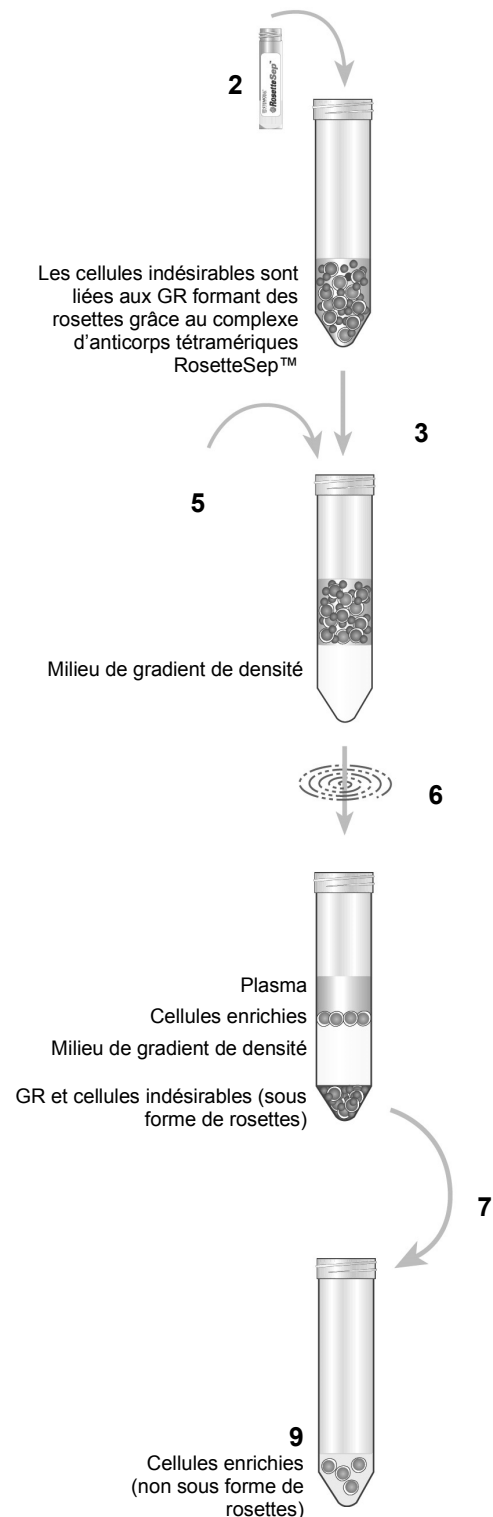
MANIPULATION ET MODE D'EMPLOI

Vérifier que l'échantillon de sang, le milieu recommandé avec ou sans EDTA (cf. Matériel Spécial Nécessaire non Fourni), le Milieu de Gradient de Densité DM-M RosetteSep™ et la centrifugeuse sont à température ambiante (15 - 25°C).

1. Aliquoter 10 mL de sang total dans un tube de 50 mL. Au besoin, conserver une petite aliquote de sang (500 µL) pour l'analyse cytométrie de flux de l'échantillon de départ.
2. Ajouter le cocktail HLA RosetteSep™ à 50 µL/mL de sang total (par ex. : pour 10 mL de sang total, ajouter 500 µL de cocktail). Bien mélanger.
3. Incuber **20 minutes** à température ambiante (15 - 25°C).
4. Diluer l'échantillon dans un volume identique de PBS + 2% de FBS avec EDTA puis mélanger doucement.
5. Disposer l'échantillon dilué au-dessus de 10 mL de Milieu de Gradient de Densité DM-M RosetteSep™ (Référence N° 15725).
Eviter de mélanger entre le milieu de gradient de densité et l'échantillon.
6. Centrifuger pendant **25 minutes** à 330 x g (cf. Notes) à température ambiante (15 - 25°C), sans frein.
7. Récupérer les cellules enrichies du Milieu de Gradient de Densité DM-M RosetteSep™ à l'interface plasma.
Note : Il est parfois difficile de voir les cellules à l'interface, notamment lorsque l'enrichissement concerne très peu de cellules. Il est recommandé de retirer une partie du milieu de gradient de densité avec les cellules enrichies, afin de garantir une récupération optimum.
8. Laver les cellules enrichies avec du PBS + 2% FBS.
9. Utiliser les cellules enrichies, selon les besoins. Si vous souhaitez effectuer une analyse par cytométrie de flux pour évaluer la pureté des cellules, nous recommandons de lyser les échantillons enrichis avec du chlorure d'ammonium afin d'éliminer les globules rouges résiduels (ceci peut être réalisé durant une étape du lavage).

DIAGRAMME DE PROTOCOLE ROSETTESEP™

Les numéros renvoient aux étapes de la section Manipulation et Mode d'Emploi.



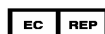
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.2.1

2015

NOTES

Milieu de gradient de densité

Le Milieu de Gradient de Densité DM-M RosetteSep™ a été formulé afin d'optimiser la récupération des cellules myéloïdes. L'utilisation d'un milieu de gradient de densité différent est susceptible de provoquer une perte de cellules.

Conversion de g en tr/min

Pour convertir g en tr/min, utiliser la formule suivante :

$$\text{tr/min} = \sqrt{\frac{\text{FCR}}{(1,118 \times 10^{-5}) \times (\text{Radius})}}$$

Où : tr/min = vitesse centrifuge en tour par minute

FCR = force centrifuge relative (g)

Radius = rayon du moteur (cm)

Contrôle de la pureté

La pureté des cellules myéloïdes (CD33⁺) peut être mesurée par cytométrie de flux après marquage à l'aide d'un anticorps anti-CD33 conjugué à un fluorochrome (par ex. : PE anti-CD33, Référence N° 10536), ou une combinaison d'autres anticorps spécifiques de cellule myéloïdes.

Afin de réduire l'agglutination d'anticorps non spécifiques, ajouter du sérum humain normal à l'ensemble des échantillons de cytométrie de flux (de départ et enrichis) préalablement à l'ajout d'anticorps fluorescent, à une concentration de 2 µL de sérum humain/100 µL de cellules.

Résultats typiques

Ces résultats sont uniquement donnés à titre d'illustration. Ils ont été obtenus à l'aide d'échantillons provenant d'adultes normaux en bonne santé. Les résultats peuvent varier d'un échantillon de donneur à un autre.

RÉFÉRENCE N°	TYPE DE CELLULES ENRICHIES	PURETE
15272HLA	Cellules myéloïdes (CD33 ⁺)	> 85%

ASSISTANCE TECHNIQUE

Pour joindre l'assistance technique, veuillez nous contacter par email à l'adresse : techsupport@stemcell.com ou par téléphone au numéro: **+1.604.877.0713**, ou le numéro sans frais européenne: **00800 7836 2355**.

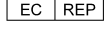
Pour de plus amples informations, veuillez visiter le site: www.stemcell.com.

Si vous avez besoin d'un d'uite en une certaine langue de ce document, veuillez contacter l'assistance technique.

EC REP MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover, Germany

 Référence du catalogue	 Numéro de lot	 Utiliser avant: AAAA-MM
 Attention: voir notice d'instructions	 Dispositif médical de diagnostic in vitro	 Limites de températures
 Marquage CE	 Fabriquant (nom et adresse)	 Représentant autorisé dans la Communauté européenne



STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com

EC REP

MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.2.1

2015

ESPAÑOL

RosetteSep™ HLA Kit para Enriquecimiento de Células Mieloides

REF 15272HLA Para 20 ensayos (10 mL de sangre total por ensayo)
Componentes:
Cóctel de RosetteSep™ HLA para Enriquecimiento de Células Mieloides 5 x 2 mL
RosetteSep™ DM-M Medio de Densidad 2 x 100 mL

USO PREVISTO

Los cócteles de enriquecimiento celular RosetteSep™ están diseñados para enriquecer in vitro ciertas subpoblaciones celulares a partir de sangre total humana.

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El cóctel de anticuerpos RosetteSep™ entrecruza las células no deseadas en sangre total humana a múltiples eritrocitos formando inmunorosetas. Esto aumenta la densidad de las células no deseadas (rosetadas), por lo que se precipitan junto a los eritrocitos libres cuando se centrifugan sobre RosetteSep™ DM-M (n.º de catálogo 15725). Las células deseadas no se marcan nunca con anticuerpos, y puede recogerse la población altamente enriquecida de forma sencilla en la interfase entre el plasma y el medio de densidad.

Cóctel de RosetteSep™ HLA para Enriquecimiento de Células Mieloides **REF** N.º 15272HC.1

El cóctel contiene una combinación de anticuerpos monoclonales de ratón y rata. Estos anticuerpos están ligados en complejos de anticuerpos tetraméricos (Tetrameric Antibody Complexes, TACs) biespecíficos, dirigidos contra los antígenos de la superficie celular de células no deseadas (CD3, CD8, CD19, CD56) y la glicoforina A en eritrocitos. La subclase del anticuerpo monoclonal de ratón es IgG₁.

RosetteSep™ DM-M Medio de Densidad **REF** N.º 15725

RosetteSep™ DM-M es un medio de separación de densidad diseñado específicamente para su uso con el cóctel RosetteSep™ para el enriquecimiento de células mieloides humanas (CD33⁺).

Densidad: 1,085 g/mL

CONTROL DE CALIDAD

Cóctel de RosetteSep™ HLA para enriquecimiento de células mieloides **REF** N.º 15272HC.1

Los cócteles de enriquecimiento celular RosetteSep™ se fabrican de forma aséptica utilizando procesos estrictamente controlados.

Cada lote de cóctel de enriquecimiento celular RosetteSep™ se somete a pruebas de esterilidad según los métodos USP (farmacopea estadounidense) y de control de calidad con pruebas de rendimiento en ensayos de separación celular con sangre total humana.

RosetteSep™ DM-M Medio de Densidad **REF** N.º 15725

El medio de densidad RosetteSep™ se fabrican de forma aséptica utilizando procesos estrictamente controlados

Cada lote de medio de densidad RosetteSep™ DM-M se somete a pruebas de esterilidad según los métodos USP (farmacopea estadounidense).

CONSERVACIÓN Y LA ESTABILIDAD

Cóctel de RosetteSep™ HLA para Enriquecimiento de Células Mieloides **REF** N.º 15272HC.1

Conservar a una temperatura de entre 2 y 8°C. Este producto se puede enviar a temperaturas de entre 15 y 25°C, pero debe refrigerarse en el momento de la recepción. No congelar. El producto permanece estable a una temperatura de entre 2 y 8°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

RosetteSep™ DM-M Medio de Densidad **REF** N.º 15725

Conservar a una temperatura de entre 15 y 25°C. La conservación a temperaturas entre 2 y 8°C es aceptable, pero es necesario asegurarse de que el medio se atempera a entre 15 y 25°C e invertir el frasco para mezclar el contenido antes de su uso. Proteger de la luz directa. El producto permanece estable a una temperatura de entre 15 y 25°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Destinado únicamente a usuarios profesionales.
2. Este producto está para uso diagnóstico in vitro.
3. No utilizar el cóctel o medio densidad si se ha producido una fuga del contenido del vial. El cóctel no utilizado o el medio de densidad no utilizado se puede desechar de acuerdo a los procedimientos estándar de laboratorio para líquidos no peligrosos.
4. Este producto debe ser manipulado por personal capacitado observando las buenas prácticas de laboratorio. Una vez que se ha añadido el producto a células humanas, la suspensión debe tratarse como peligro biológico potencial. La manipulación de los reactivos y el tratamiento de los residuos deberán realizarse observando toda la normativa local, estatal o nacional.
5. Este producto puede irritar los ojos, el sistema respiratorio y la piel. Este producto también puede ser perjudicial si se ingiere. Evitar la exposición sobre la piel, el contacto con los ojos, la inhalación y la ingestión.



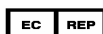
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.2.1

2015

MATERIALES ESPECIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Solución de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)

Solución de EDTA 0,5 M (p.ej., solución de ácido etilendiaminotetraacético, sal disódica, 0,5 M, n.º de catálogo E7889 de Sigma).

Medio recomendado

Tampón fosfato salino con 2% de suero fetal bovino (PBS + 2% FBS, n.º de catálogo 07905), uno con 1 mM de EDTA y uno sin EDTA.

Para preparar PBS + 2% FBS + 1 mM EDTA, añadir 1 mL de EDTA 0,5 M a 499 mL de PBS + 2% FBS.

MANIPULACIÓN E INSTRUCCIONES DE USO

Asegurarse de que la muestra de sangre, el medio recomendado con y sin EDTA (consulte el apartado Materiales Especiales Necesarios Pero no Suministrados), RosetteSep™ DM-M Medio de Densidad y la centrifuga estén a temperatura ambiente (15 - 25°C).

1. Alicuotar 10 mL de sangre total en un tubo de 50 mL. Si se desea, se puede reservar una pequeña alícuota de sangre (500 µL) para un análisis por citometría de flujo de la muestra inicial.
2. Añadir cóctel de RosetteSep™ HLA en una proporción de **50 µL/mL** de sangre total (p.ej., para 10 mL de sangre total, añadir 500 µL de cóctel). Mezclar bien.
3. Incubar durante **20 minutos** a temperatura ambiente (15 - 25°C).
4. Diluir la muestra en un volumen equivalente de PBS + 2% FBS con EDTA y mezclar con cuidado.
5. Añadir una capa de muestra diluida sobre 10 mL de RosetteSep™ DM-M Medio de Densidad (n.º de catálogo 15725).

Ponga atención para minimizar la posibilidad de que el medio de gradiente de densidad se mezcle con la muestra.

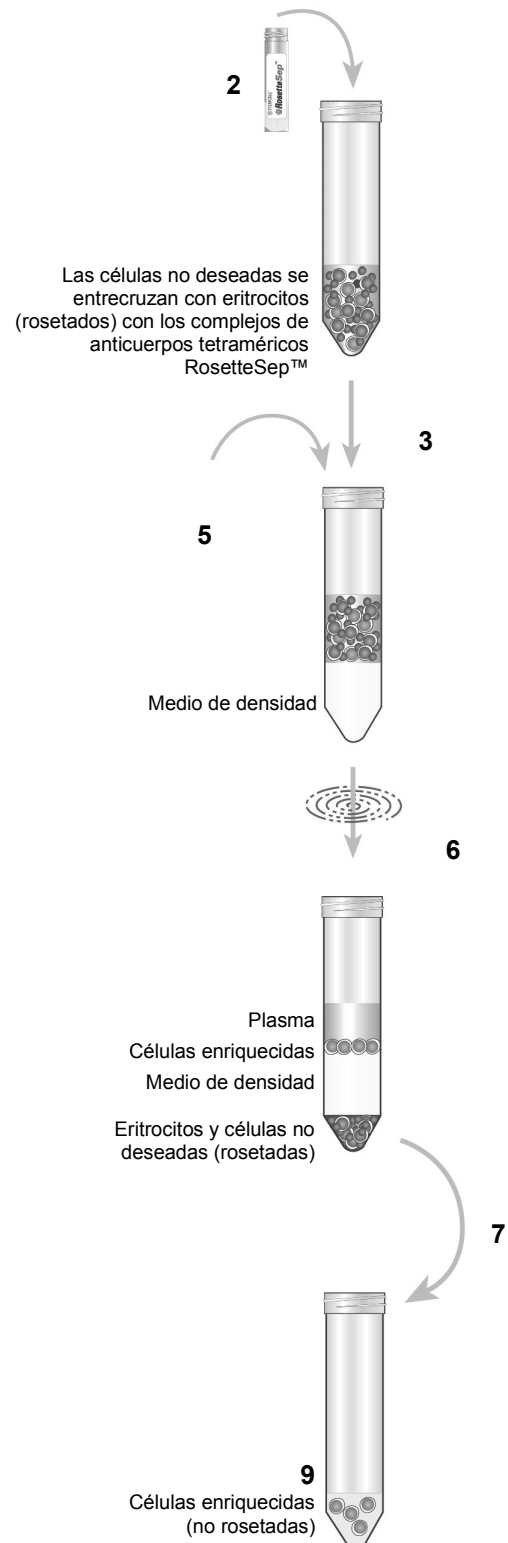
6. Centrifugar durante **25 minutos** a 330 x g (consulte las Notas) a temperatura ambiente (15 - 25°C) y sin freno.
7. Retirar las células enriquecidas de la interfase entre el RosetteSep™ DM-M Medio de Densidad y el plasma.

Nota: En algunas ocasiones, es difícil ver las células en la interfase, especialmente cuando se enriquecen células muy poco comunes. Es aconsejable retirar parte del medio de gradiente de densidad junto con las células enriquecidas a fin de asegurar una recuperación óptima.

8. Lavar las células enriquecidas con PBS + 2% FBS.
9. Utilice las células enriquecidas para el uso deseado. Si desea evaluar la pureza celular por citometría de flujo, recomendamos lisar las muestras enriquecidas con cloruro de amonio para eliminar los eritrocitos residuales (esto se puede realizar como el paso de lavado).

PROCEDIMIENTO ROSETTESEP™

Los números hacen referencia a los pasos descritos en Manipulación e Instrucciones de Uso.



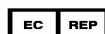
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.2.1

2015

NOTAS

Medio de densidad

El RosetteSep™ DM-M Medio de Densidad ha sido formulado para optimizar la recuperación de células mieloides. El uso de un medio de densidad diferente puede causar pérdida de células.

Conversión de g a RPM

Para convertir g a rpm, utilice la fórmula siguiente:

$$\text{RPM} = \sqrt{\frac{\text{RCF}}{(1,118 \times 10^{-5}) \times (\text{Radio})}}$$

Donde: RPM = velocidad de centrifugado en revoluciones por minuto

RCF = fuerza centrífuga relativa (g)

Radio = radio del rotor (cm)

Evaluación de la pureza

Se puede medir la pureza de las células mieloides (CD33⁺) por medio de citometría de flujo después de la tinción con anticuerpos anti-CD33 conjugados con un fluorocromo (p. ej., PE anti-CD33, n.º de catálogo 10536) o una combinación de otros anticuerpos específicos de las células mieloides.

Para reducir la unión de anticuerpos no específicos, añadir suero humano normal a todas las muestras de citometría de flujo (iniciales y enriquecidas) antes de añadir la tinción de anticuerpos, a una concentración de 2 µL de suero humano/100 µL de células.

Resultados típicos

Estos resultados se presentan a modo ilustrativo únicamente. Se han obtenido utilizando muestras de individuos adultos normales y sanos. Los resultados de muestras de pacientes pueden variar.

N.º DE CATÁLOGO	TIPO DE CÉLULA ENRIQUECIDA	PUREZA
15272HLA	Células mieloides (CD33 ⁺)	> 85%

ASISTENCIA TÉCNICA

Si necesita asistencia técnica, envíenos un correo electrónico a techsupport@stemcell.com o llame al +1.604.877.0713, o llame al número gratuito Europea 00800 7836 2355.

Para más información, entre en www.stemcell.com.

Si necesita una copia impresa o una versión de este documento traducido a un determinado idioma, no dude en ponerse en contacto con el servicio de asistencia técnica.

EC REP MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover, Germany

 Número de catálogo o referencia	 Código de lote	 Usar hasta: AAAA-MM
 Precaución, consultar los documentos adjuntos	 Equipo médico para diagnóstico in vitro	 Conservar dentro del rango de temperaturas
 Marca CE	 Identificación del fabricante (nombre y domicilio)	 Representante autorizado para la Comunidad Europea



STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.2.1

2015

ITALIANO

RosetteSep™ HLA - Kit di Arricchimento per Cellule Mieloidi

REF 15272HLA

Per 20 test (10 mL di sangue intero per test)

Componenti:

RosetteSep™ HLA Cocktail di Arricchimento
per Cellule Mieloidi

5 x 2 mL

Mezzo di Densità RosetteSep™ DM-M

2 x 100 mL

UTILIZZO

I cocktail di arricchimento cellulare RosetteSep™ sono destinati all'arricchimento in vitro di sottoinsiemi cellulari specifici dal sangue umano intero.

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Il cocktail di anticorpi RosetteSep™ lega le cellule indesiderate del sangue umano intero a un gran numero di globuli rossi formando delle immunorosette. Ciò aumenta la densità delle cellule (rosette) indesiderate, che si depositeranno sul fondo insieme ai globuli rossi liberi quando sono centrifugate con RosetteSep™ DM-M (Catalogo #15725). Le cellule desiderate non sono mai marcate dagli anticorpi e vengono raccolte facilmente come popolazione altamente arricchita all'interfaccia tra il plasma e il mezzo di densità galleggiante.

RosetteSep™ HLA Cocktail di

REF N. 15272HC.1

Arricchimento per Cellule Mieloidi

Questo cocktail contiene una combinazione di anticorpi monoclonali di topo e ratto. Gli anticorpi sono uniti in Complessi di anticorpi tetramerici (TAC) bispecifici diretti contro gli antigeni di superficie delle cellule indesiderate (CD3, CD8, CD19, CD56) e contro la glicoforina A dei globuli rossi. La sottoclasse di anticorpi monoclonali di topo è IgG1.

Mezzo di Densità RosetteSep™ DM-M

REF N. 15725

RosetteSep™ DM-M è un mezzo di separazione per densità destinato all'uso con cocktail di arricchimento per cellule mieloidi umane RosetteSep™ (CD33⁺).

Densità: 1,085 g/mL

CONTROLLI DI QUALITÀ

RosetteSep™ HLA Cocktail di

REF N. 15272HC.1

arricchimento per cellule mieloidi

I cocktail di arricchimento cellulare RosetteSep™ sono prodotti utilizzando una tecnica asettica e dei processi altamente controllati.

Ogni lotto di cocktail di arricchimento cellulare RosetteSep™ è sottoposto a test sulla sterilità conformi ai metodi USP e a test di rendimento sul controllo qualità in analisi di separazione cellulare in cui viene usato del sangue umano intero.

Mezzo di Densità RosetteSep™ DM-M

REF N. 15725

Il mezzo di densità RosetteSep™ DM-M è prodotto utilizzando una tecnica asettica e dei processi altamente controllati.

Ogni lotto di mezzo di densità RosetteSep™ DM-M è sottoposto a test sulla sterilità conformi ai metodi USP.

CONSERVAZIONE E LA STABILITÀ

RosetteSep™ HLA Cocktail di

REF N. 15272HC.1

Arricchimento per Cellule Mieloidi

Conservare a 2 - 8°C. Questo prodotto può essere spedito a 15 - 25°C, ma deve essere messo in frigorifero alla ricezione. Non congelare. Prodotto stabile a 2 - 8°C fino alla data di scadenza indicata nell'etichetta.

Mezzo di Densità RosetteSep™ DM-M

REF N. 15725

Conservare a una temperatura di 15 - 25°C. Lo stoccaggio a 2 - 8°C è accettabile, ma accertarsi che il mezzo si equilibri a 15 - 25°C e invertire ripetutamente il contenitore per miscelare il contenuto prima dell'uso. Tenere lontano dalla luce diretta. Prodotto stabile a 15 - 25°C fino alla data di scadenza indicata nell'etichetta.

AVVERTIMENTI E PRECAUZIONI

1. Solo per utilizzatori professionisti.
2. Questo prodotto è da utilizzare per diagnostica in vitro.
3. Non usare il cocktail o il mezzo di densità in caso di perdite dalla fiala. Il cocktail o mezzo di densità inutilizzati possono essere smaltiti in base alle procedure standard di laboratorio relative ai liquidi non pericolosi.
4. Il prodotto deve essere utilizzato da personale qualificato in base alle buone prassi di laboratorio. Una volta aggiunto il prodotto alle cellule umane, trattare la sospensione come potenzialmente biopericolosa. L'utilizzo di reagenti e lo smaltimento di scarti devono essere svolti in conformità alle disposizioni locali, statali o nazionali.
5. Questo prodotto è potenzialmente irritante per gli occhi, il sistema respiratorio e la pelle. Può inoltre essere dannoso se ingerito. Evitare l'esposizione alla pelle, il contatto con gli occhi, l'inalazione e l'ingestione.

MATERIALI SPECIALI RICHESTI MA NON FORNITI

Soluzione di acido etilendiamminotetracetico (EDTA)

Soluzione 0,5 M di EDTA (ad es. soluzione di sale disodico di acido etilendiamminotetracetico 0,5 M, Catalogo #E7889, Sigma).

Mezzo consigliato

Tampone fosfato salino con siero fetale bovino al 2% (PBS + 2% FBS, Catalogo #07905) entrambi con e senza EDTA 1 mM.

Per preparare il PBS + 2% FBS + EDTA 1mM, aggiungere 1 mL di EDTA 0,5 M a 499 mL di PBS + 2% FBS.



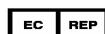
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.2.1

2015

INDICAZIONI DI UTILIZZO

Accertarsi che il campione di sangue, il mezzo consigliato con e senza EDTA (cfr. Materiali Speciali Richiesti ma non Forniti), Mezzo di Densità RosetteSep™ DM-M e la centrifuga siano a temperatura ambiente (15 - 25°C).

1. Aliquotare 10 mL di sangue intero in una provetta da 50 mL. Se lo si desidera, mantenere una piccola quantità di sangue (500 µL) per l'analisi citometrica a flusso del campione di partenza.
2. Aggiungere il cocktail RosetteSep™ HLA a **50 µL/mL** di sangue intero (ad es. per 10 mL di sangue intero, aggiungere 500 µL di cocktail). Mescolare bene.
3. Incubare per **20 minuti** a temperatura ambiente (15 - 25°C).
4. Diluire il campione con un volume uguale di PBS + 2% FBS con EDTA e mescolare delicatamente.
5. Stratificare il campione diluito sopra 10 mL di Mezzo di Densità RosetteSep™ DM-M (Catalogo #15725).

Fare attenzione a minimizzare il mescolamento del mezzo gradient di densità e del campione.

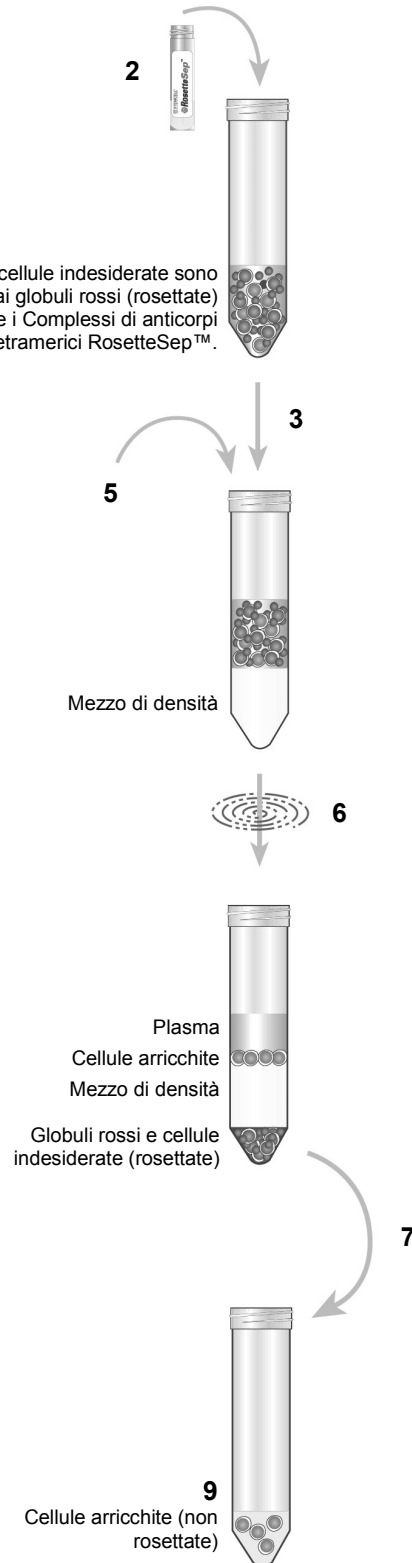
6. Centrifugare per **25 minuti** a 330 x g (cfr. Note) a temperatura ambiente (15 - 25°C) con il freno disattivato.
7. Togliere le cellule arricchite dall'interfaccia Mezzo di Densità RosetteSep™ DM-M : plasma.

Note: Talvolta è difficile vedere le cellule nell'interfaccia, in particolare quando si arricchiscono cellule molto rare. Si consiglia di rimuovere parte del mezzo gradiente di densità insieme alle cellule arricchite onde assicurare un recupero ottimale.

8. Lavare le cellule arricchite con PBS + 2% FBS.
9. Utilizzare le cellule arricchite, se lo si desidera. Se desidera valutare la purezza delle cellule con la citometria a flusso, consigliamo di lisare i campioni arricchiti con cloruro di ammonio onde rimuovere i globuli rossi residui (questa operazione può essere effettuata durante il lavaggio).

PROCEDURA ROSETTESEP™

I numeri si riferiscono ai passaggi indicati in Indicazioni di Utilizzo.



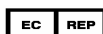
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.2.1

2015

NOTE

Mezzo di densità

Il Mezzo di Densità RosetteSep™ DM-M è stato formulato per ottimizzare la ripresa delle cellule mieloidi. L'utilizzo di un mezzo di densità differente può causare perdita cellulare.

Conversione di g in RPM

Per convertire g in rpm, usare la seguente formula:

$$\text{RPM} = \sqrt{\frac{\text{RCF}}{(1,118 \times 10^{-5}) \times (\text{Raggio})}}$$

In cui: RPM = velocità centrifuga in giri al minuto
RCF = forza centrifuga relativa (g)
Raggio = raggio del rotore (cm)

Valutazione della purezza

È possibile misurare la purezza delle cellule mieloidi (CD33⁺) tramite la citometria a flusso dopo colorazione con un anticorpo anti-CD33 coniugato con fluorocromo (ad es. PE anti-CD33, Catalogo #10536) o una combinazione di altri anticorpi specifici per le cellule mieloidi.

Al fine di ridurre il legame di anticorpi non specifici, aggiungere siero umano normale a tutti i campioni per la citometria a flusso (di partenza e arricchiti) prima di aggiungere la colorazione con anticorpi, in ragione di 2 µL di siero umano per 100 µL di cellule.

Risultati tipici

I seguenti risultati sono a scopo puramente illustrativo. Sono stati ottenuti utilizzando campioni di adulti normali sani. I risultati relativi ai singoli campioni di pazienti possono variare.

CATALOGO #	TIPO DI CELLULA ARRICCHITA	PUREZZA
15272HLA	Cellule mieloidi (CD33 ⁺)	> 85%

ASSISTENZA TECNICA

Per assistenza tecnica, contattarci per e-mail all'indirizzo techsupport@stemcell.com o telefonare al numero **+1.604.877.0713**, o al numero verde europeo **00800 7836 2355**. Per ulteriori informazioni visitare www.stemcell.com.

Se avete bisogno di una copia stampata oppure di una versione tradotta di questo documento in una certa lingua contattate il supporto tecnico.

EC REP MDSS GmbH

Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germany

 Numero di catalogo o di riferimento	 Lotto	 Usare prima: AAAA-MM
 Attenzione, consultare i documenti allegati	 Dispositivo medico diagnostico in vitro	 Conservare entro il limiti di temperatura
 Marchio CE	 ID del produttore (nome e indirizzo)	 Rappresentante autorizzato EC dalla Comunità Europea



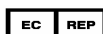
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.2.1

2015

DEUTSCH

RosetteSep™ HLA Cocktail zur Anreicherung myeloider Zellen

REF 15272HLA

Für 20 Tests (10 mL Vollblut pro Test)

Komponenten:

RosetteSep™ HLA Cocktail zur Anreicherung

5 x 2 mL

Myeloider Zellen

RosetteSep™ DM-M Density Medium

2 x 100 mL

INTENDIERTE ANWENDUNG

RosetteSep™ Cocktails zur Zellanreicherung wurden zur *in-vitro*-Anreicherung spezifischer Zell-Populationen aus humanen erythrocytenhaltigen Probenmaterial, einschließlich Vollblut, hergestellt.

PRODUKTBESCHREIBUNG

Der RosetteSep™ Antikörper-Cocktail quervernetzt unerwünschte Zellen und roten Blutkörperchen (RBK) im humanen Vollblut und bildet so Immunrosetten. Auf diese Weise erhöht sich die Dichte der unerwünschten Zellen, sodass diese beim Zentrifugieren in einem Dichtemedium wie über dem RosetteSep™ DM-M (Katalognr. 15725) nach unten zentrifugiert werden. Die unmarkierten Zielzellen finden sich als hoch angereicherte Population in der Interphase zwischen Plasma und Dichtegradientenmedium.

RosetteSep™ HLA Cocktail zur Anreicherung Myeloider Zellen

REF Nr. 15272HC.1

Dieser Cocktail enthält eine Mischung monoklonaler Antikörper aus Mäusen und Ratten. Die Antikörper sind in bi-spezifische tetramerische Antikörperkomplexe (TACs) gebunden, die gegen Zelloberflächenantigene auf unerwünschte Zellen (CD3, CD8, CD19, CD56) und Glycophorin A auf roten Blutkörperchen gerichtet sind. Die Unterklasse der monoklonalen Mausantikörper ist IgG₁.

RosetteSep™ DM-M Density Medium

REF Nr. 15725

RosetteSep™ DM-M ist ein dichtespezifisches Medium, das spezifisch für den Einsatz mit RosetteSep™-Cocktails zur Anreicherung humaner myeloider (CD33⁺) Zellen hergestellt wurde.

Dichte: 1,085 g/mL

QUALITÄTSKONTROLLE

RosetteSep™ HLA Cocktail zur Anreicherung Myeloider Zellen

REF Nr. 15272HC.1

RosetteSep™ Cocktails zur Zellanreicherung werden unter aseptischen Bedingungen und mittels streng kontrollierter Verfahren hergestellt.

Jede Charge RosetteSep™ Cocktails zur Zellanreicherung wird gemäß USP-Verfahrensweisen auf Sterilität getestet und Qualitätskontrollen mit humanem Vollblut in Zelltrennungsanalysen durchgeführt.

RosetteSep™ DM-M Density Medium

REF Nr. 15725

Der RosetteSep™ DM-M Density Medium wird unter aseptischen Bedingungen und mittels streng kontrollierter Verfahren hergestellt.

Jede Charge RosetteSep™ DM-M Density Medium wird gemäß USP-Verfahrensweisen auf Sterilität getestet.

LAGERUNG UND STABILITÄT

RosetteSep™ HLA Cocktail zur Anreicherung Myeloider Zellen

REF Nr. 15272HC.1

Lagerung bei 2 - 8°C. Das Produkt kann bei einer Temperatur von 15 - 25°C transportiert werden, muss aber nach Erhalt gekühlt gelagert werden. Nicht einfrieren. Produktstabilität bei 2 - 8°C bis zum auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum.

RosetteSep™ DM-M Density Medium

REF Nr. 15725

Bei 15 - 25°C aufbewahren. Eine Lagerung bei 2 - 8°C ist zulässig, aber es ist zu gewährleisten, dass das Medium auf 15 - 25°C vor der Nutzung erwärmt wird. Bitte stellen Sie die Flasche vor der Nutzung einige Zeit auf den Kopf, damit sich der Inhalt vermischen kann. Vor direkter Lichteinstrahlung schützen. Produktstabilität bei 15 - 25°C bis zum auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Nur für die professionelle Anwendung.
2. Dieses Produkt ist Zur Verwendung als In-vitro-Diagnostikum.
3. Verwenden Sie keine Cocktail oder Dichtemedium, wenn eine Beschädigung der Umverpackung vorliegt. Nichtverwendete Cocktail oder Dichtemedium können gemäß den gängigen Laborverfahren für nicht gefährliche Flüssigkeiten entsorgt werden.
4. Die Handhabung dieses Produkts ist nur ausgebildetem Personal gestattet, das die Normen der guten Laborpraxis einhält. Wenn das Produkt humanen Zellen beigegeben wurde, ist die Suspension als potentiell biologisch gefährlich zu behandeln. Bei der Handhabung der Reagenzien und der Entsorgung von Abfallstoffen sind sämtliche regionalen oder nationalen Richtlinien einzuhalten.
5. Dieses Produkt kann Reizungen der Augen, des Atemsystems und der Haut verursachen. Das Produkt kann beim Verschlucken schädlich sein. Der Kontakt durch die Haut, Augenkontakt, Einatmung und orale Aufnahme sollten vermieden werden.



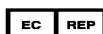
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.2.1

2015

NOTWENDIGE, ABER NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE SONDERMATERIALIEN

Äthylendiamintetraessigsäure-Lösung (EDTA)

0,5 M EDTA-Lösung (z. B. Äthylendiamintetraessigsäure-Dinatriumsalz-Lösung, 0,5 M, Katalognr. E7889 von Sigma).

Empfohlenes Medium

Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung mit 2% fetalem Rinderserum (PBS + 2% FBS, Katalognr. 07905), beide sowohl mit und ohne 1 mM EDTA.

Zu Herstellung von PBS + 2% FBS + 1 mM EDTA, 1 mL 0,5 M EDTA zu 499 mL PBS + 2% FBS hinzugeben.

HANDHABUNG UND ANWENDUNGSHINWEISE

Stellen Sie sicher, dass die Blutprobe, das empfohlene Medium mit und ohne EDTA (siehe Notwendige, jedoch nicht beigefügte Sondermaterialien), RosetteSep™ DM-M Density Medium sowie die Zentrifuge Zimmertemperatur (15 - 25°C) haben.

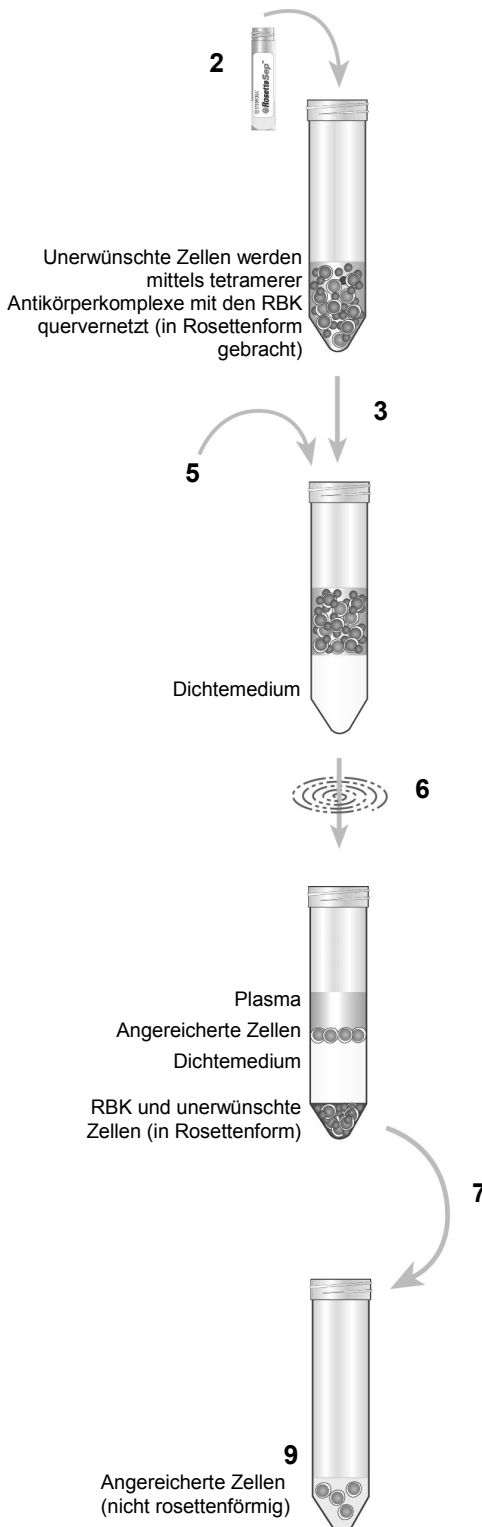
1. 10 mL Vollblut in ein 50 mL Röhrchen aliquotieren. Falls gewünscht, ein kleines Blut-Aliquot (500 µL) zur Durchflusszytometrie der Ausgangsprobe zurückbehalten.
2. RosetteSep™ HLA Cocktail zu **50 µL/mL** Vollblut hinzugeben (z. B. bei 10 mL Vollblut 500 µL Cocktail hinzugeben). Gut mischen.
3. **20 Minuten** bei Zimmertemperatur (15 - 25°C) inkubieren.
4. Probe mit einem gleichen Volumen von PBS + 2% FBS mit EDTA verdünnen und vorsichtig mischen.
5. Die verdünnte Probe auf 10 mL RosetteSep™ DM-M Density Medium (Katalognr. 15725) aufschichten.
Vermeiden Sie dabei die Vermischung von Dichtegradienten-medium und der Probe.
6. **25 Minuten** bei 330 x g (siehe Anmerkungen) bei Zimmertemperatur (15 - 25°C) ohne Bremse zentrifugieren.
7. Die angereicherten Zellen vom RosetteSep™ DM-M Density Medium entfernen : Interphase.

Anmerkung: Mitunter ist es schwierig, die Zellen in der Interphase zu erkennen, besonders wenn sehr seltene Zellen angereichert werden. Es empfiehlt sich, die Interphase großzügig (mit einem Teil des Dichtegradienten-mediums) aufzunehmen, um eine optimale Gewinnung zu gewährleisten.

8. Angereicherte Zellen mit PBS + 2% FBS waschen.
9. Angereicherte Zellen wie gewünscht verwenden. Wenn Sie die Zellreinheit mittels einer Durchflusszytometrie bewerten möchten, empfehlen wir, die angereicherten Proben mit Salmiak zu lysieren, um Rückstände von RBK zu entfernen (dies kann während des Waschvorgangs erfolgen).

ROSETTESEP™-VERFAHREN

Die Zahlen beziehen sich auf die unter Handhabung und Anwendungshinweise angegebenen Schritte.



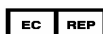
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.2.1

2015

ANMERKUNGEN

Dichtemedium

Das RosetteSep™ DM-M Density Medium wurde zur Optimierung der Gewinnung myeloider Zellen entwickelt. Die Verwendung eines anderen Dichtemediums kann zu Zellverlust führen.

Umwandlung von *g* zu UpM (Drehzahl)

Zur Umwandlung von *g* in UpM, bitte folgende Formel verwenden:

$$\text{UpM} = \sqrt{\frac{\text{RZB}}{(1,118 \times 10^{-5}) \times (\text{Radius})}}$$

Wobei: UpM = Umdrehung pro Minute
RZB = Relative Zentrifugalbeschleunigung (*g*)
Radius = Rotorradius (cm)

Reinheitsanalyse

Die Reinheitsmessung der myeloiden (CD33⁺) Zellen kann entweder mittels Durchflusszytometrie nach der Einfärbung mit einem fluorochromkonjugierten anti-CD33 Antikörper (z. B. PE anti-CD33, Katalognr. 10536) erfolgen oder unter Verwendung einer Kombination anderer Antikörper, die spezifisch für myeloide Zellen sind.

Um die Bindung nicht spezifischer Antikörper zu reduzieren, ist allen Durchflusszytometrie-Proben (original und angereichert) vor der Zugabe der Antikörper-Präparation für die immunhistologische Färbung normales humanes Serum in einer Konzentration von 2 µL humanen Serums/100 µL Zellen hinzuzufügen.

Typische Ergebnisse

Diese Ergebnisse dienen ausschließlich Anschauungszwecken. Sie wurden aus Proben normaler, gesunder Erwachsener gewonnen. Die Ergebnisse individueller Patientenproben können voneinander abweichen.

KATALOGNR.	ANGEREICHERTER ZELLTYP	REINHEIT
15272HLA	Myeloide Zellen (CD33 ⁺)	> 85%

TECHNISCHE UNTERSTÜTZUNG

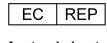
Weitere technische Unterstützung erhalten Sie, indem Sie eine E-Mail an techsupport@stemcell.com senden, oder telefonisch unter **+1.604.877.0713**, oder der Europäischen gebührenfreie Telefonnummer **00800 7836 2355**.

Weitere Informationen finden Sie unter www.stemcell.com.

Wenn Sie ein gedrucktes Exemplar oder eine übersetzte Version dieses Dokuments in einer bestimmten Sprache benötigen, wenden Sie sich bitte an die technische Unterstützung.

 **MDSS GmbH**

Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germany

 Katalog oder Referenznummer	 Lotnummer	 Verbrauch bis: JJJJ-MM
 Vorsicht, beiliegende Dokumentation beachten	 In Vitro Diagnostisches Medizinprodukt	 Für Lagerung innerhalb der Temperaturgrenzen
 CE Zeichen	 Hersteller Identifikation (Name & Adresse)	 Autorisierter Händler innerhalb der EU



STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.2.1

2015