

## EasySep™人 Pan - ILC 富集试剂盒

可处理  $1 \times 10^9$  个细胞

产品号 #17975

负选

文档号 #1000029452 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

电话: 400 885 9050

E-MAIL: [INFO.CN@STEMCELL.COM](mailto:INFO.CN@STEMCELL.COM)

### 产品介绍

通过免疫磁珠负选从洗涤的白细胞单采术样本中富集无磁珠标记的 1 型、2 型和 3 型先天淋巴细胞 (ILC1, 2, 3)。

- 操作简单、快捷,且无需分离柱
- 分选得到的细胞不带标记
- 便于快速流式分选 ILCs

该试剂盒通过使用识别细胞特异性表面标志物的抗体来去除非ILCs。非目的细胞用抗体和磁珠标记,并通过EasySep™磁极进行无柱分选。目的细胞被简单地倾倒入。分选后的细胞可立即用于下游应用,例如流式细胞术和流式分选。

### 包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™人 Pan-ILC 富集抗体混合物	17975C	1 x 0.5 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。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50103磁珠	50103	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存, 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在水中的磁珠悬浮液。

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

有关可用的新鲜样本, 请参见 [www.stemcell.com/primarycells](http://www.stemcell.com/primarycells)。

白细胞单采术样本

通过添加等体积的推荐缓冲液或含有2%胎牛血清 (FBS) 的PBS来清洗外周血白细胞单采术样本。

在室温 (15 - 25°C) 下以 300 x g 离心10分钟。如果需要裂解红细胞 (RBC), 请使用氯化铵溶液 (产品号 #07800) 进行裂解。如果需要去除血小板, 请在关闭刹车的情况下以 120 x g 离心10分钟。去除上清液, 并将细胞以  $1 \times 10^8$  细胞/mL 的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

### 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。缓冲液应该不含Ca++和Mg++。

## 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和表2。

表1.EasySep™ 人Pan - ILC富集试剂盒操作流程

		EASYSEPT™磁极
步骤	说明	“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 1 - 5 mL
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	在样本中加入富集抗体混合物。	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育1分钟
5	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。	定容至原样本体积的两倍
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟
6	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒入清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，然后将新试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次分选。	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*，倾倒入清液至一个新的试管中。	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。

表2.EasySep™人 Pan - ILC 富集试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEPTM磁极	
		EasyEights™ (产品号 #18103)  14 mL 流式管	Easy 50 (产品号 #18002) 
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 - 5 mL	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 10 - 25 mL
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)	50 mL (30 x 115 mm) 锥形管 (如: 产品号 #38010)
2	在样本中加入富集抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育1分钟	室温孵育1分钟
5	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。	定容至原样本体积的两倍	定容至原样本体积的两倍
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育15分钟	室温孵育15分钟
6	小心地吸出**（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管。	使用新的 14 mL 流式管	使用新的 50 mL 锥形管
7	从磁极中取出试管，然后将新试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次分选。	室温孵育15分钟	室温孵育15分钟
8	小心地吸出**（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管。	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)

\*\* 使用单个移液管一次性收集全部上清液（例如，对于EasyEight™14 mL 试管，使用10 mL 血清移液管 [产品号 #38004]）。

## 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3。

表3.RoboSep™人 Pan - ILC 富集试剂盒操作流程

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 - 5 mL	
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)	
2	选择实验程序。	人 Pan-ILC 负选 17975	
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	
4	加载转盘。	根据屏幕上的提示操作	
	启动实验程序。	按下绿色的“Run (运行)”按钮	
5	运行完成后，卸载转盘。	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

ILCs的表型定义为谱系阴性（谱系特异性标记请见下方），CD45阳性和CD127阳性。

注: ILCs不同亚型特征如下: ILC1为CD161+/-CD294-CD117-, ILC2s为CD161+CD294+CD117+/-, ILC3s为Lin-CD161+CD294-CD117+。

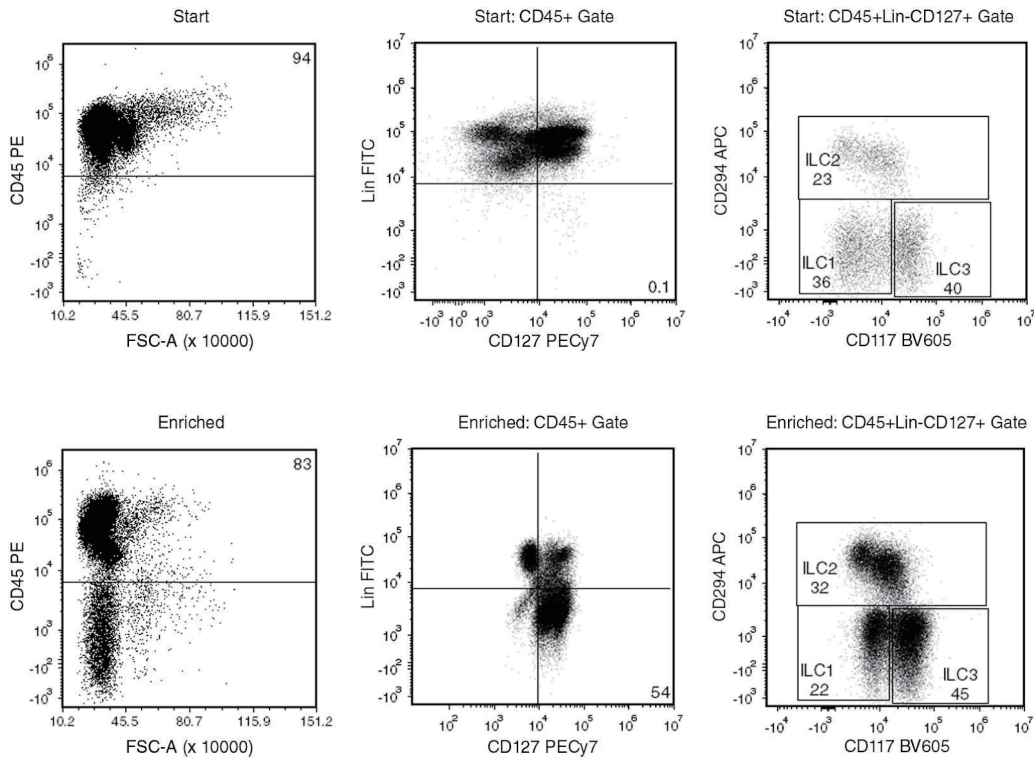
要通过流式细胞术评估ILCs的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD45抗体，克隆 HI30（产品号 #60018），
- 抗人CD127（IL-7Ra）抗体，克隆A019D5，
- 抗人CD161（KLRB1）抗体，克隆HP-3G10，
- 抗人CD294（CRTH2）抗体，克隆BM16，
- 抗人CD117（c-Kit）抗体，克隆104D2（产品号 #60087）以及
- 抗人谱系特异性抗体（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：

- 抗人CD1a 抗体，克隆HI149，以及
- 抗人CD3抗体，克隆UCHT1（产品号 #60011），以及
- 抗人CD4 抗体，克隆RPA-T4，以及
- 抗人CD11c 抗体，克隆3.9，以及
- 抗人CD14抗体，克隆M5E2（产品号 #60004），以及
- 抗人CD16抗体，克隆3G8（产品号 #60041），以及
- 抗人CD19抗体，克隆HIB19（产品号 #60005），以及
- 抗人CD34抗体，克隆581（产品号 #60013），以及
- 抗人CD94抗体、克隆DX22，以及
- 抗人CD123（IL-3Ra）抗体，克隆6H6（产品号 #60110），以及
- 抗人CD303抗体、克隆201A，以及
- 抗人FceR1a抗体，克隆AER - 37，以及
- 抗人TCR α/β 抗体，克隆IP26以及
- 抗人TCR gamma/delta抗体，克隆B1

## 实验数据



起始样本为新鲜的白细胞单采术样本，富集后的总ILC含量 (Lin-CD45+CD127+) 通常为17 - 85%。在上述实验中，起始样本和富集后的ILCs纯度分别为0.09% 和 45%（在CD45+细胞中分别为 0.1% 和 54%）。

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](http://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及其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasyEights、EasyPlate、EasySep、SepMate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。