

EasySep™人 CD11b 正选和去除试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #100-0742

产品号 #100-0744 RoboSep™

正选

文档号 #10000035710 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

通过免疫磁珠分选, 从新鲜或冻存的人外周血单个核细胞 (PBMCs) 或白细胞单采术样本中分选或去除高纯度的CD11b+细胞。

- 操作简单、快速
- 纯度高达99%
- 无需分离柱

该试剂盒使用识别CD11b细胞表面标志物的抗体来正选CD11b+细胞。目的细胞用抗体和磁珠标记, 并通过 EasySep™ 磁极进行无柱分选。非目的细胞通过简单倾倒入弃去, 而目的细胞则保留在试管中。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。

该试剂盒也可以用于去除CD11b+细胞 (处理 5×10^8 细胞; 去除操作流程请见表3-4)。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。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ 人CD11b正选和去除抗体混合物	300-0391	1 x 0.75 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻	具体效期请见标签	保存在含2% HPCD和0.09% rHA的PBS中的单克隆抗体混合物, 包含Fc受体阻断抗体。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100	50100	2 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。

HPCD - 2-羟丙基-β-环糊精; PBS - 磷酸盐缓冲液; rHA - 重组人白蛋白
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

有关可用的新鲜和冻存样本, 请参见www.stemcell.com/primarycells。

人外周血

通过在密度梯度离心液 (如Lymphoprep™, 产品号 #18060) 上离心, 从全血中制备外周血单个核细胞 (PBMC) 悬液。如需更快地制备PBMC, 可以使用SepMate™ RUO (产品号 #86450/86415) 或SepMate™ IVD* (产品号 #85450/85415) 细胞分选管。

如果使用冻存的PBMC, 在室温 (15 - 25°C) 下用终浓度为100 µg/mL的 DNase I 溶液 (1 mg/mL; 产品号 #07900) 孵育细胞至少15分钟, 再进行标记和分选。使用37 µm的细胞滤筛 (产品号 #27250) 过滤细胞悬液去除细胞团块, 以获得最佳结果。

制备完成后, 将细胞以 1×10^8 细胞/mL 的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

* 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)。

裂解的白细胞单采术样本

1. 将等体积的氯化铵溶液 (产品号 #07800) 添加到白细胞单采术样本中。

注: 如果使用样本体积较大 (> 150 mL), 请首先以300 x g 离心10分钟来浓缩白细胞单采术样本。去除上清液, 并用原样本体积的1/10的推荐缓冲液重悬细胞 (例如, 对于300 mL细胞样本, 重悬于30 mL 推荐缓冲液中, 并添加30 mL 氯化铵溶液)。对于小体积样本 (≤ 150 mL), 将氯化铵溶液直接添加到白细胞单采术样本中。

2. 冰上孵育15分钟。

3. 在室温 (15 - 25°C) 下以300 x g 离心10分钟。去除上清液。

4. 使用推荐的缓冲液加满试管以清洗细胞。在室温下, 关闭刹车, 将细胞以120 x g 离心10分钟。小心地去除上清液。

5. 重复步骤4 一次或多次, 直至去除大部分血小板 (标志是上清液变澄清)。

6. 将细胞以 1×10^8 细胞/mL 的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

洗涤的白细胞单采术样本

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 1×10^8 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页和第2页了解样本制备和推荐缓冲液。有关每种EasySep™磁极的详细说明，请参阅表1 - 2（正选）或表3 - 4（去除）。

注：需要时，可以在进行EasySep™人CD11b去除的同时也进行CD11b+细胞的分选（参见表3 - 4，步骤7）。如需了解更多信息，请通过info.cn@stemcell.com联系我们。

表1. EasySep™人CD11b正选操作流程

		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 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 8 mL
2	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: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
3	将抗体混合物加入样本中。 注意：不要涡旋抗体混合物。	75 µL/mL 样本	75 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
4	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意：磁珠应呈均匀分散状态	30 秒	30 秒
5	将RapidSpheres™ 加到样本中。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
6	添加推荐的缓冲液，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	<ul style="list-style-type: none"> ●若样本 < 2 mL，定容至 5 mL ●若样品 ≥ 2 mL，定容至 10 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育5分钟
7	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*， 倾倒入清液。从磁极中取出试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液
8	重复以上步骤。	重复两次步骤6和7 (总共进行3次3分钟的分选)	重复两次步骤6和7 (总共进行3次5分钟的分选)
9	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从试管壁上收集细胞。	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，然后翻转回直立位置。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

不要摇晃

表2.EasySep™人CD11b 正选操作流程

		EASYSEP™ 磁极		
步骤	说明	EasySep™ (产品号 #18103)		Easy 50 (产品号 #18002)
		5 mL 流式管	14 mL 流式管	
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 8 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 5 - 40 mL
2	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: 产品号 #38007)	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)
3	将抗体混合物加入样本中。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	75 µL/mL 样本	75 µL/mL 样本	75 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
4	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态	30 秒	30 秒	30 秒
5	将RapidSpheres™ 加到样本中。	100 µL/mL 样本	150 µL/mL 样本	150 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
6	添加推荐的缓冲液，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	<ul style="list-style-type: none"> ●若样本 < 2 mL，定容至5 mL ●若样品 ≥ 2 mL，定容至10 mL 	<ul style="list-style-type: none"> ●若样本 ≤ 5 mL，定容至10 mL ●若样本 > 5 - 10 mL，定容至20 mL ●若样本 > 10 - 15 mL，定容至30 mL ●若样本 > 15 - 20 mL，定容至40 mL ●若样本 > 20 - 40 mL，定容至50 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
7	小心地吸取**（切勿倾倒）上清液。从磁极中取出试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液	弃去上清液
8	重复以上步骤。	重复两次步骤6和7 (总共进行3次10分钟的分选)	重复两次步骤6和7 (总共进行3次10分钟的分选)	重复两次步骤6和7 (总共进行3次10分钟的分选)
9	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从试管壁上收集细胞。	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	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

** 使用一个移液管一次收集所有的上清液 (例如, 对于EasyEights™ 5 mL 流式管, 使用一个 2 mL 血清移液管 [产品号 #38002]; 对于EasyEights™ 14 mL 流式管, 使用一个10 mL 血清移液管[产品号 #38004])。

表3.EasySep™人CD11b 去除操作流程

		EASYSEPT™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 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 1.5 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 7.5 mL
2	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: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
3	将抗体混合物加入样本中。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	150 µL/mL 样本	150 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
4	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态	30 秒	30 秒
5	将RapidSpheres™ 加到样本中。	150 µL/mL 样本	150 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
6	添加推荐的缓冲液，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	<ul style="list-style-type: none"> •若样本 < 2 mL, 定容至 5 mL •若样品 ≥ 2 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
7	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*， 倾倒入上清液至一个新的试管中。	使用新的5 mL 流式管 注: 如果需要分选CD11b+细胞, 请从磁极中取出试管, 并用推荐缓冲液重悬细胞 (与步骤6中使用的体积相同) §	使用新的14 mL 流式管 注: 如果需要分选CD11b+细胞, 请从磁极中取出试管, 并用推荐缓冲液重悬细胞 (与步骤6中使用的体积相同) §
8	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
9	将RapidSpheres™ 加到新试管里的上清液中。	75 µL/mL起始样本体积	75 µL/mL起始样本体积
	混匀并孵育。	室温孵育1分钟	室温孵育1分钟
10	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	室温孵育5分钟
11	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*， 倾倒入上清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
12	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三次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
13	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*， 倾倒入上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	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，然后翻转回直立位置。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

§ 请通过info.cn@stemcell.com联系我们以获取后续的实验方法。

表4.EasySep™人CD11b 去除操作流程

		EASYSEPT™磁极	
步骤	说明	EasyEights™ (产品号 #18103)‡	
		5 mL 流式管	14 mL 流式管
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 1.5 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 7.5 mL
2	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: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
3	将抗体混合物加入样本中。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	150 µL/mL 样本	150 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
4	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
5	将RapidSpheres™ 加到样本中。	150 µL/mL 样本	150 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
6	添加推荐的缓冲液，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	<ul style="list-style-type: none"> •若样本 < 2 mL，定容至 5 mL •若样品 ≥ 2 mL，定容至10 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
7	小心地吸出**（切勿倾倒）上清液至一个新的试管。	使用新的5 mL 流式管 注: 如果需要分离CD11b+细胞，请从磁极中取出试管， 并用推荐的培养基重悬细胞 (与步骤6中使用的体积相同) §	使用新的14 mL 流式管 注: 如果需要分选CD11b+细胞，请从磁极中取出试管， 并用推荐缓冲液重悬细胞 (与步骤6中使用的体积相同) §
8	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
9	将RapidSpheres™ 加到新试管里的上清液中。	75 µL/mL 起始样本体积	75 µL/mL 起始样本体积
	混匀并孵育。	室温孵育1分钟	室温孵育1分钟
10	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10分钟	室温孵育10分钟
11	小心地吸出**（切勿倾倒）上清液至一个新的试管。	使用新的5 mL 流式管	使用新的14 mL 流式管
12	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三次分选。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
13	小心地吸出**（切勿倾倒）上清液至一个新的试管。	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)

** 使用一个移液管一次收集所有的上清液 (例如, 对于EasyEights™ 5 mL 流式管, 使用一个 2 mL 血清移液管 [产品号 #38002]; 对于EasyEights™ 14 mL 流式管, 使用一个10 mL 血清移液管[产品号 #38004])。

§ 请通过info.cn@stemcell.com联系我们以获取后续的实验方法。

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5。

表5. RoboSep™ 人CD11b 正选操作流程

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 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 8 mL	
2	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)	
3	选择实验程序。	人CD11b 正选 100 - 0744	
4	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	
5	加载转盘。 注意：不要涡旋抗体混合物。	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	
6	运行完成后，卸载转盘。 取出装有目的细胞的试管，然后将细胞重悬于所需培养基中。 请确保从试管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

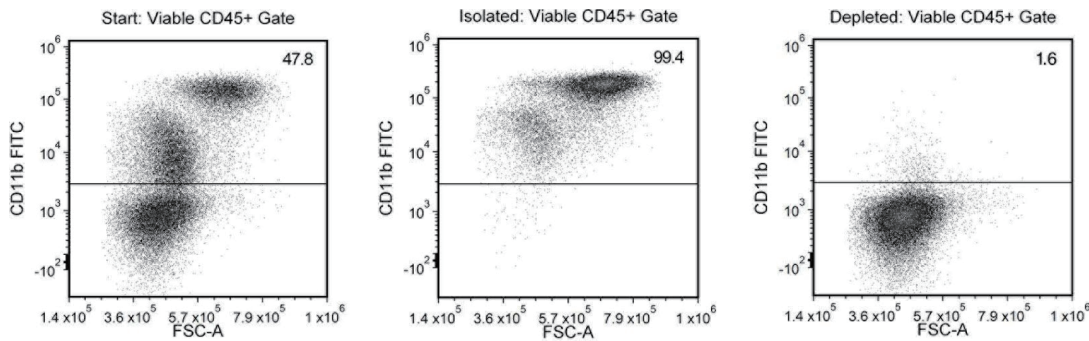
注意事项和提示

纯度评估

要通过流式细胞术评估细胞纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD11b抗体，克隆ICRF44 (产品号 #60040)，以及
- 抗人CD45抗体，克隆HI30 (产品号 #60018)

实验数据



起始样本为人PBMCs，正选后的CD11b+细胞含量通常为 $98.6 \pm 1.4\%$ ，而去除后通常为 $1.7 \pm 1.2\%$ （使用EasySep™ 磁极，平均值 ± 标准差）。上述实验中，CD11b+细胞在起始、分选后和去除后的含量分别为47.8%、99.4%和1.6%。

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及其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasyEights、EasySep、RapidSpheres、RoboSep、和SepMate均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Lymphoprep™是Serumwerk Bemburg 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。