

RosetteSep™ HLA B Cell Enrichment Cocktail



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713
INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM
FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

Catalog #15064HLA 5 x 2 mL For processing 250 mL whole blood
Catalog #15084HLA 20 x 2 mL For processing 1000 mL whole blood

Document #1000009597 | Version 02

ENGLISH

Product Description

Enrich untouched and highly purified B cells directly from human whole blood by negative selection.

- Fast and easy-to-use
- Requires no special equipment or training
- Isolated cells are untouched
- Can be combined with SepMate™ for consistent, high-throughput sample processing

This kit targets non-B cells for removal with antibodies recognizing specific cell surface markers. The RosetteSep™ antibody cocktail crosslinks unwanted cells in human whole blood to multiple red blood cells (RBCs), forming immunorosettes. This increases the density of the unwanted (rosetted) cells, such that they pellet along with the free RBCs when centrifuged over a density gradient medium. 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. Isolated cells are immediately available for downstream applications such as flow cytometry, cell culture, or DNA/RNA extraction.

Quality Control

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.

Component Descriptions

COMPONENT NAME	COMPONENT #	QUANTITY	STORAGE	SHELF LIFE	FORMAT
RosetteSep™ HLA B Cell Enrichment Cocktail	15024HC.1	2 mL	Store at 2 - 8°C. Do not freeze.	Stable until expiry date (EXP) on label.	A combination of monoclonal antibodies in PBS.

PBS - phosphate-buffered saline

Components may be shipped at room temperature (15 - 25°C) but should be stored as indicated above.

Precipitate may be observed in the cocktail vial but will not affect performance.

Materials Required But Not Provided

RosetteSep™ DM-L Density Medium (Catalog #15705), Lymphoprep™ (Catalog #07801), or other density gradient medium with a density of 1.077 g/mL.

Recommended Medium

Dulbecco's Phosphate Buffered Saline with 2% Fetal Bovine Serum (Catalog #07905).

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free-number: 00800 7836 2355

E-mail: techsupport@stemcell.com

Document #1000009597

Version 02

2021

Directions for Use

Ensure that blood sample, recommended medium, density gradient medium, and centrifuge are all at room temperature (15 - 25°C).

1. Add RosetteSep™ HLA Cocktail at 40 $\mu\text{L}/\text{mL}$ of whole blood (e.g. for 2 mL of whole blood, add 80 μL of cocktail). Mix well. If using samples other than fresh whole blood, see Notes and Tips.
NOTE: Do not vortex cocktail.
2. Incubate at room temperature (15 - 25°C) for 20 minutes.
3. Dilute sample with an equal volume of recommended medium and mix gently.
4. Layer the diluted sample on top of the density gradient medium
OR
Layer the density gradient medium underneath the diluted sample. Be careful to minimize mixing of the density gradient medium and sample.
NOTE: See Table 1 for volume recommendations. With 50 mL conical tubes (e.g. Catalog #38010), we suggest using a minimum of 15 mL density gradient medium to make it easier to remove the enriched layer.
5. Centrifuge at 1200 x g (see Notes and Tips) for 20 minutes at room temperature (15 - 25°C) with the brake off.
6. Remove the enriched cells from the density gradient medium : plasma interface.
NOTE: Sometimes it is difficult to see the cells at the interface, especially when very rare cells are enriched. Remove some of the density gradient medium along with the enriched cells in order to ensure optimal recovery.
7. Wash enriched cells with recommended medium. Repeat.
8. Use enriched cells as desired. If you wish to evaluate the cell purity by flow cytometry, we recommend lysing enriched samples with Ammonium Chloride Solution (Catalog #07800) to remove residual RBCs (this can be done as the wash step).

Table 1. Recommended Volumes and Tube Sizes

WHOLE BLOOD VOLUME	RECOMMENDED MEDIUM VOLUME	TUBE SIZE	DENSITY GRADIENT MEDIUM VOLUME
1 mL	1 mL	5 mL	1.5 mL
2 mL	2 mL	14 mL	3 mL
3 mL	3 mL	14 mL	3 mL
4 mL	4 mL	14 mL	4 mL
5 mL	5 mL	50 mL	15 mL
10 mL	10 mL	50 mL	15 mL
15 mL	15 mL	50 mL	15 mL

Notes and Tips

SAMPLES OTHER THAN WHOLE BLOOD

Although RosetteSep™ has been optimized for use with whole blood, cells can be enriched from other sources (e.g. buffy coat, leukapheresis samples). The concentration of nucleated cells in the sample should not exceed 5×10^7 cells/mL, and RBCs should be present at a ratio of at least 100 RBCs per nucleated cell.

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: RCF = relative centrifugal force (g)
RPM = centrifuge speed in revolutions per minute
Radius = radius of rotor (cm)

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free-number: 00800 7836 2355

E-mail: techsupport@stemcell.com

ASSESSING PURITY

For purity assessment of B cell (CD19+) by flow cytometry, use the following fluorochrome-conjugated antibody clones:

- Anti-Human CD19 Antibody, Clone HIB19 (Catalog #60005), or
- Anti-Human CD20 Antibody, Clone 2H7 (Catalog #60008)

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
15064HLA/15084HLA	B Cells (CD19+)	> 65%

Technical Assistance

For technical support, 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, visit www.stemcell.com.

If you require a printed copy or a translated version of this document in a certain language, contact us at techsupport@stemcell.com.

PRODUCTS ARE FOR RESEARCH USE ONLY AND NOT INTENDED FOR HUMAN OR ANIMAL DIAGNOSTIC OR THERAPEUTIC USES UNLESS OTHERWISE STATED. FOR ADDITIONAL INFORMATION ON QUALITY AT STEMCELL, REFER TO WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE.

Copyright © 2021 by STEMCELL Technologies Inc. All rights reserved including graphics and images. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, and RosetteSep are trademarks of STEMCELL Technologies Canada Inc. Lymphoprep is a trademark of Alere Technologies. All other trademarks are the property of their respective holders. While STEMCELL has made all reasonable efforts to ensure that the information provided by STEMCELL and its suppliers is correct, it makes no warranties or representations as to the accuracy or completeness of such information.

RosetteSep™ HLA B Cell Enrichment Cocktail



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713

INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM

FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

Catalog #15064HLA 5 x 2 mL Pour traiter 250 mL de sang total
Catalog #15084HLA 20 x 2 mL Pour traiter 1000 mL de sang total

Document #1000009597 | Version 02

FRANÇAIS

Description du Produit

Enrichir des lymphocytes B hautement purifiées et non-marquées directement à partir d'échantillons de sang total humain par sélection immunomagnétique négative.

- Rapide et facile d'utilisation
- Ne requiert aucun équipement spécialisé ou de formation particulière
- Les cellules isolées demeurent non-marquées
- Peut être combiné avec SepMate™ pour un traitement d'échantillons uniforme et à rendement élevé

Ce kit cible l'élimination de types cellulaires non-B par leur marquage avec des anticorps spécifiques aux antigènes de surface. Le cocktail d'anticorps RosetteSep™ relie les cellules indésirables du sang total humain aux globules rouges, formant des immunorosettes. Cette méthode augmente la densité des cellules indésirables (en rosettes), de sorte qu'elles sédimentent avec les globules rouges lorsqu'elles sont centrifugées sur un média à gradient de densité. La population enrichie en cellules désirables demeure non-marquée d'anticorps et celles-ci peuvent être facilement récupérées à l'interface entre la couche de plasma sanguin et le média à gradient de densité. Les cellules isolées sont immédiatement disponibles pour plusieurs applications en aval telles que la cytométrie en flux, la culture cellulaire ou l'extraction d'ADN/ARN.

Contrôle de la Qualité

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.

Descriptions des Composantes

NOM DE LA COMPOSANTE	N° DE LA COMPOSANTE	QUANTITÉ	ENTREPOSAGE	STABILITÉ	FORMAT
RosetteSep™ HLA B Cell Enrichment Cocktail	15024HC.1	2 mL	Entreposer entre 2 et 8°C. Ne pas congeler.	Stable jusqu'à la date de péremption (EXP) figurant sur l'étiquette.	Combinaison d'anticorps monoclonaux en PBS.

PBS - solution saline tamponnée au phosphate

Les composants peuvent être expédiés à température ambiante (15 - 25°C) mais doivent être stockés comme indiqué ci-dessus.

Des précipités peuvent être observés dans le flacon du cocktail, mais n'affecteront pas la performance.

Matériel Nécessaire non Fourni

RosetteSep™ DM-L Density Medium (Référence N° 15705), Lymphoprep™ (Référence N° 07801), ou un autre milieu de gradient de densité avec une densité de 1,077 g/mL.

Milieu Recommandé

Tampon phosphate salin avec 2% de sérum foetal bovin (Référence N° 07905).

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free-number: 00800 7836 2355

E-mail: techsupport@stemcell.com

Document #1000009597

Version 02

2021

Manipulation et Mode d'Emploi

Vérifier que l'échantillon de sang, le milieu recommandé, le milieu de gradient de densité et la centrifugeuse sont à température ambiante (15 - 25°C).

1. Ajouter le cocktail HLA RosetteSep™ à 40 µL/mL de sang total (p. ex., pour 2 mL de sang total, ajouter 80 µL de cocktail). Bien mélanger. En cas d'utilisation d'échantillons autres que du sang total frais, se référer aux Notes et Conseils.
REMARQUE: Ne pas vortexer le cocktail.

2. Incuber à température ambiante (15 - 25°C) pendant 20 minutes.

3. Diluer l'échantillon dans un volume identique de milieu recommandé puis mélanger doucement.

4. Disposer l'échantillon dilué au-dessus du milieu de gradient de densité.

OU

Disposer le milieu de gradient de densité sous l'échantillon dilué. Eviter de mélanger entre le milieu de gradient de densité et l'échantillon.

REMARQUE: Se référer au Tableau 1 pour les recommandations de volume. Pour des tubes coniques de 50 mL (p. ex., Référence N° 38010), nous conseillons d'utiliser au moins 15 mL de milieu de gradient de densité, afin de faciliter la récupération de la fraction enrichie.

5. Centrifuger à 1200 x g (cf. Notes et Conseils) pendant 20 minutes à température ambiante (15 - 25°C) sans frein.

6. Récupérer les cellules enrichies du milieu de gradient de densité à l'interface plasma.

REMARQUE: Il est parfois difficile de voir les cellules à l'interface, notamment lorsque l'enrichissement concerne très peu de cellules. Retirer une partie du milieu de gradient de densité avec les cellules enrichies, afin de garantir une récupération optimum.

7. Laver les cellules enrichies avec du milieu recommandé. Répéter.

8. 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 une solution de chlorure d'ammonium (Référence N° 07800) afin d'éliminer les globules rouges résiduels (ceci peut être réalisé durant une étape du lavage).

Tableau 1. Volumes Recommandés et Tailles des Tubes

VOLUME DE SANG TOTAL	VOLUME DE MILIEU RECOMMANDÉ	TAILLE DU TUBE	VOLUME DE MILIEU DE GRADIENT DE DENSITÉ
1 mL	1 mL	5 mL	1,5 mL
2 mL	2 mL	14 mL	3 mL
3 mL	3 mL	14 mL	3 mL
4 mL	4 mL	14 mL	4 mL
5 mL	5 mL	50 mL	15 mL
10 mL	10 mL	50 mL	15 mL
15 mL	15 mL	50 mL	15 mL

Notes et Conseils

ÉCHANTILLONS AUTRES QUE DU SANG TOTAL

Bien que RosetteSep™ ait été optimisé pour une utilisation avec du sang total, les cellules peuvent être enrichies à partir d'autres sources (p. ex., la couche leucocyto-plaquettaire, des échantillons de leucaphérèse). La concentration de cellules nucléées dans l'échantillon ne doit pas dépasser 5×10^7 cellules/mL, et les GR doivent être présents à un ratio d'au moins 100 GR par cellule nucléée.

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 : FCR = force centrifuge relative (g)

tr/min = vitesse centrifuge en tour par minute

Radius = rayon du moteur (cm)

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free-number: 00800 7836 2355

E-mail: techsupport@stemcell.com

Document #1000009597

Version 02

2021

ÉVALUATION DE LA PURETÉ

Pour évaluer la pureté des cellules B (CD19+) par cytométrie en flux, utiliser les clones d'anticorps conjugués à des flurochromes suivants:

- Anti-Human CD19 Antibody, Clone HIB19 (Référence N° 60005), ou
- Anti-Human CD20 Antibody, Clone 2H7 (Référence N° 60008)

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	PURETÉ
15064HLA/15084HLA	Cellules B (CD19+)	> 65%

Assistance Technique

Pour joindre l'assistance technique, prendre contact avec nous 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 obtenir de plus amples informations, visiter le site www.stemcell.com.

Si vous avez besoin d'une copie imprimée ou d'une version de ce document dans une certain langue, contactez-nous à techsupport@stemcell.com.

LES PRODUITS SONT À USAGE DE RECHERCHE UNIQUEMENT ET NON DESTINÉS À DES USAGES DIAGNOSTIQUES OU THÉRAPEUTIQUES HUMAINS OU ANIMAUX, SAUF INDICATION CONTRAIRE. POUR PLUS D'INFORMATIONS SUR LA QUALITÉ CHEZ STEMCELL, CONSULTEZ WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE.

Copyright © 2021 de STEMCELL Technologies Inc. Tous droits réservés, y compris les graphiques et les images. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, et RosetteSep sont des marques de commerce de STEMCELL Technologies Canada Inc. Lymphoprep est une marque commerciale de Alere Technologies. Toutes les autres marques de commerce appartiennent à leurs propriétaires respectifs. STEMCELL a déployé tous les efforts raisonnables pour s'assurer que les renseignements fournis par STEMCELL et ses fournisseurs sont corrects; toutefois, la société ne donne aucune garantie ni ne fait aucune déclaration concernant l'exactitude ou l'exhaustivité desdits renseignements.

RosetteSep™ HLA B Cell Enrichment Cocktail



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713
INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM
FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

Catalog #15064HLA 5 x 2 mL Para procesar 250 mL de sangre total
Catalog #15084HLA 20 x 2 mL Para procesar 1000 mL de sangre total

Document #1000009597 | Version 02

ESPAÑOL

Descripción del Producto

Enriquezca linfocitos B intactos y altamente enriquecidos directamente de sangre periférica humana mediante selección negativa.

- Rápido y fácil de usar
- No requiere equipo o entrenamiento especial
- Las células aisladas están intactas
- Se puede combinar con SepMate™ para un procesamiento de muestras uniforme y de alto rendimiento

Este kit reconoce las células que no son linfocitos B para su posible eliminación, ya que el cocktail de anticuerpos reconoce marcadores de superficie celular específicos. El cocktail de anticuerpos RosetteSep™ entrelaza las células no deseadas presentes en la sangre total humana, mediante múltiples glóbulos rojos (RBC), formando inmunorosetas. Esto aumenta la densidad de las células no deseadas (formadas en rosetas), de modo que sedimentan junto con los glóbulos rojos libres cuando se centrifuga la muestra sobre un medio de gradiente de densidad. Las células deseadas no son marcadas con anticuerpos y se recogen fácilmente como una población altamente enriquecida en el anillo formado entre el plasma y el medio de gradiente de densidad. Las células aisladas están disponibles de inmediato para aplicaciones posteriores, como citometría de flujo, cultivo celular o extracción de ADN/ARN.

Control de Calidad

Los cócteles de enriquecimiento celular RosetteSep™ se fabrican mediante técnicas asépticas 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.

Descripción de Componentes

NOMBRE DEL COMPONENTE	COMPONENTE Nº	CANTIDAD	ALMACENAMIENTO	VIDA ÚTIL	FORMATO
RosetteSep™ HLA B Cell Enrichment Cocktail	15024HC.1	2 mL	Almacenese de 2 a 8°C. No congelar.	Estable hasta la fecha de vencimiento (EXP) de la etiqueta.	Una combinación de anticuerpos monoclonales en PBS.

PBS - tampón fosfato salino

Los componentes pueden enviarse a temperatura ambiente (15 - 25°C) pero deben almacenarse como se indica arriba.

Precipitados pueden formarse en el vial del cóctel, pero esto no afectará el rendimiento del producto.

Materiales Necesarios pero no Suministrados

RosetteSep™ DM-L Density Medium (No. de catálogo 15705), Lymphoprep™ (No. de catálogo 07801), u otro medio de gradiente de densidad con una densidad de 1,077 g/mL.

Medio Recomendado

Tampón fosfato salino con 2% de suero fetal bovino (No. de catálogo 07905).

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free-number: 00800 7836 2355

E-mail: techsupport@stemcell.com

Document #1000009597

Version 02

2021

Manipulación e Instrucciones de Uso

Asegurarse de que la muestra de sangre, el medio recomendado, el medio de gradiente de densidad y la centrifuga estén a temperatura ambiente (15 - 25°C).

- Añadir cóctel de HLA RosetteSep™ en una proporción de 40 µL/mL de sangre total (p. ej., para 2 mL de sangre total, añadir 80 µL de cóctel). Mezclar bien. En caso de utilizar muestras que no sean sangre total fresca, consulte las Notas y Consejos.
NOTA: No vortex cóctel.
- Incubar a temperatura ambiente (15 - 25°C) por 20 minutos.
- Diluir la muestra en un volumen equivalente de medio recomendado y mezclar con cuidado.
- Añada una capa de la muestra diluida sobre el medio de gradiente de densidad
○
Añada una capa de medio de gradiente de densidad bajo la muestra diluida. Ponga atención para minimizar la posibilidad de que el medio de densidad se mezcle con la muestra.
NOTA: Consulte las recomendaciones de volumen en la Tabla 1. Con tubos cónicos de 50 mL (p. ej., No. de catálogo 38010), sugerimos utilizar un mínimo de 15 mL de medio de gradiente de densidad para facilitar la recogida de la capa enriquecida.
- Centrifugar a 1200 x g (consulte las Notas y Consejos) por 20 minutos a temperatura ambiente (15 - 25°C) sin freno.
- Retirar las células enriquecidas de la interfase entre el medio de gradiente 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. Retirar parte del medio de gradiente de densidad junto con las células enriquecidas a fin de asegurar una recuperación óptima.
- Lavar las células enriquecidas con medio recomendado. Repetir.
- Utilice las células enriquecidas para el uso deseado. Si desea evaluar la pureza celular por citometría de flujo, recomendamos lisar las muestras enriquecidas con una solución de cloruro de amonio (No. de catálogo 07800) para eliminar los eritrocitos residuales (esto se puede realizar como el paso de lavado).

Tabla 1. Volúmenes y Tamaños de Tubo Recomendados

VOLUMEN DE SANGRE TOTAL	VOLUMEN DE MEDIO RECOMENDADO	TAMAÑO DE TUBO	VOLUMEN DE MEDIO DE GRADIENTE DE DENSIDAD
1 mL	1 mL	5 mL	1,5 mL
2 mL	2 mL	14 mL	3 mL
3 mL	3 mL	14 mL	3 mL
4 mL	4 mL	14 mL	4 mL
5 mL	5 mL	50 mL	15 mL
10 mL	10 mL	50 mL	15 mL
15 mL	15 mL	50 mL	15 mL

Notas y Consejos

MUESTRAS DE SUSTANCIAS QUE NO SEAN SANGRE TOTAL

Aunque RosetteSep™ se ha optimizado para su uso con sangre total, también pueden enriquecerse células procedentes de otras fuentes (p. ej., muestras de capa leucocitaria, leucaféresis). La concentración de células nucleadas en la muestra no debe ser mayor de 5×10^7 células/mL y la presencia de eritrocitos debe ser en una proporción de al menos 100 por cada célula nucleada.

CONVERSIÓN DE g A RPM

Para convertir g a rpm, utilice la fórmula siguiente:

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

Donde: RCF = fuerza centrífuga relativa (g)
RPM = velocidad de centrifugado en revoluciones por minuto
Radio = radio del rotor (cm)

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free-number: 00800 7836 2355

E-mail: techsupport@stemcell.com

EVALUACIÓN DE LA PUREZA

Para la evaluación de la pureza de los linfocitos B (CD19+) por citometría de flujo, utilice los siguientes clones de anticuerpo conjugados con fluorocromo.

- Anti-Human CD19 Antibody, Clone HIB19 (No. de catálogo 60005), o
- Anti-Human CD20 Antibody, Clone 2H7 (No. de catálogo 60008)

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
15064HLA/15084HLA	Linfocitos B (CD19+)	> 65%

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, visite www.stemcell.com.

Si necesita una copia impresa o una versión traducida de este documento, contáctenos en techsupport@stemcell.com.

LOS PRODUCTOS SON SOLO PARA USO EN INVESTIGACIONES Y NO ESTÁN PREVISTOS PARA DIAGNÓSTICO HUMANO NI ANIMAL, NI USOS TERAPÉUTICOS, SALVO QUE SE INDIQUE LO CONTRARIO. PARA OBTENER INFORMACIÓN ADICIONAL SOBRE LA CALIDAD EN STEMCELL, REMÍTASE A WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE.

Copyright © 2021 de STEMCELL Technologies Inc. Todos los derechos reservados incluyendo los gráficos e imágenes. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, y RosetteSep son marcas comerciales de STEMCELL Technologies Canada Inc. Lymphoprep es una marca comercial de Alere Technologies. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos titulares. Si bien STEMCELL ha hecho todos los esfuerzos razonables para garantizar que la información proporcionada por STEMCELL y sus proveedores sea correcta, no garantiza ni se manifiesta en relación con la exactitud o integridad de tal información.

RosetteSep™ HLA B Cell Enrichment Cocktail



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713
INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM
FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

Catalog #15064HLA 5 x 2 mL Per il trattamento di 250 mL di sangue intero
Catalog #15084HLA 20 x 2 mL Per il trattamento di 1000 mL di sangue intero

Document #1000009597 | Version 02

ITALIANO

Descrizione del Prodotto

Arricchire le cellule B intatte e altamente purificate direttamente dal sangue intero umano mediante selezione negativa.

- Veloce e facile da usare
- Non richiede attrezzatura speciale o addestramento
- Le cellule isolate non vengono toccate
- Può essere combinato con SepMate™ per un'elaborazione del campione coerente e ad alta produttività

Questo kit ha come obiettivo la rimozione di cellule non B con l'utilizzo di anticorpi che riconoscono specifici marcatori di superficie cellulare. Il cocktail di anticorpi RosetteSep™ lega le cellule indesiderate nel sangue intero umano a più globuli rossi (RBC), formando immunorosette. Ciò aumenta la densità delle cellule indesiderate (a rosetta), in modo tale che si accumulano insieme ai globuli rossi liberi quando vengono centrifugate su un mezzo a gradiente di densità. Le cellule desiderate non vengono mai marcate con l'anticorpo e vengono facilmente raccolte come una popolazione altamente arricchita all'interfaccia tra il plasma e il mezzo a gradiente di densità. Le cellule isolate sono immediatamente disponibili per applicazioni a valle come citometria a flusso, coltura cellulare o estrazione di DNA/RNA.

Controlli di Qualità

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.

Descrizione dei Componenti

NOMBRE DE COMPONENTE	COMPONENTE NO.	CANTIDAD	CONSERVAZIONE	STABILITÀ	FORMATO
RosetteSep™ HLA B Cell Enrichment Cocktail	15024HC.1	2 mL	Conservare a 2 - 8°C. Non congelare.	Stabile fino alla data di scadenza (EXP) sull'etichetta.	Una combinación de anticuerpos monoclonales en PBS.

PBS - tampone fosfato salino

I componenti possono essere spediti a temperatura ambiente (15 - 25°C) ma devono essere conservati come sopra indicato.

Si potrebbe osservare la formazione di un precipitato nel tubo del cocktail, questo non influenza la prestazione.

Materiali Richiesti ma non Forniti

RosetteSep™ DM-L Density Medium (Nr. di catalogo 15705), Lymphoprep™ (Nr. di catalogo 07801), o altro mezzo gradiente di densità con una densità di 1,077 g/mL.

Mezzo Consigliato

Salina tamponata al fosfato con siero di bovino totale al 2% (Nr. di catalogo 07905).

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free-number: 00800 7836 2355

E-mail: techsupport@stemcell.com

Document #1000009597

Version 02

2021

Indicazioni di Utilizzo

Accertarsi che il campione di sangue, il mezzo consigliato, il mezzo gradiente di densità e la centrifuga siano a temperatura ambiente (15 - 25°C).

1. Aggiungere il cocktail RosetteSep™ HLA a 40 µL/mL di sangue intero* (ad es. per 2 mL di sangue intero, aggiungere 80 µL di cocktail). Mescolare bene. Se si utilizzano campioni diversi dal sangue intero fresco, consultare le Note e Suggestimenti.
NOTA: Non vortice cocktail.
2. Incubare a temperatura ambiente (15 - 25°C) per 20 minuti.
3. Diluire il campione con un volume uguale di mezzo consigliato e mescolare delicatamente.
4. Sistemare il campione diluito sopra il mezzo gradiente di densità
○ Sistemare il mezzo gradiente di densità sotto il campione diluito. Fare attenzione a minimizzare la mescolatura del mezzo gradiente di densità e del campione.
NOTA: Cfr. Tabella 1 per le raccomandazioni sui volumi. Con i tubi conici da 50 mL (ad es. Nr di catalogo 38010), suggeriamo di utilizzare un minimo di 15 mL di mezzo gradiente di densità, onde facilitare la rimozione dello strato arricchito dopo la centrifuga.
5. Centrifugare a 1200 x g (cfr. Note e Suggestimenti) per 20 minuti a temperatura ambiente (15 - 25°C) con il freno disattivato.
6. Togliere le cellule arricchite dal mezzo di gradiente di densità : interfaccia plasma.
NOTA: Talvolta è difficile vedere le cellule nell'interfaccia, in particolare quando si arricchiscono cellule molto rare. Rimuovere parte del mezzo gradiente di densità insieme alle cellule arricchite onde assicurare una ripresa ottimale.
7. Lavare le cellule arricchite con mezzo consigliato. Ripetere.
8. 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 una soluzione di cloruro di ammonio (Nr. di catalogo 07800) onde rimuovere i globuli rossi residui (questa operazione può essere effettuata durante il lavaggio).

Tabella 1. Volumi Consigliati e Dimensioni dei Tubi

VOLUME DEL SANGUE INTERO	VOLUME DEL MEZZO CONSIGLIATO	DIMENSIONI TUBO	VOLUME DEL MEZZO GRADIENTE DI DENSITÀ
1 mL	1 mL	5 mL	1,5 mL
2 mL	2 mL	14 mL	3 mL
3 mL	3 mL	14 mL	3 mL
4 mL	4 mL	14 mL	4 mL
5 mL	5 mL	50 mL	15 mL
10 mL	10 mL	50 mL	15 mL
15 mL	15 mL	50 mL	15 mL

Note e Suggestimenti

CAMPIONI DIVERSI DAL SANGUE INTERO

Anche se RosetteSep™ è ottimizzato per l'uso con il sangue intero, è possibile arricchire le cellule da altre fonti (come crosta, campioni di leucaferesi). La concentrazione di cellule nucleate nel campione non deve superare 5×10^7 cellule/mL, e i globuli rossi devono essere presenti nel rapporto di almeno 100 globuli rossi per cellula nucleata.

CONVERSIONE DI g IN RPM

Per convertire g in rpm, usare la seguente formula:

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

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

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free-number: 00800 7836 2355

E-mail: techsupport@stemcell.com

VALUTAZIONE DELLA PUREZZA

Per la valutazione della purezza dei cellule B (CD3+) tramite citometria a flusso, usare i seguenti cloni di anticorpi coniugati al fluorocromo:

- Anti-Human CD19 Antibody, Clone HIB19 (Nr di catalogo 60001), o
- Anti-Human CD20 Antibody, Clone 2H7 (Nr di catalogo 60008)

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
15064HLA/15084HLA	Cellule B (CD19+)	> 65%

Assistenza Techica

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, contattaci a techsupport@stemcell.com.

I PRODOTTI SONO SOLO PER UTILIZZO DI RICERCA E NON DESTINATI AD USI DIAGNOSTICI O TERAPEUTICI UMANI O ANIMALI SE NON DIVERSAMENTE INDICATO. PER ULTERIORI INFORMAZIONI SULLA QUALITÀ PRESSO STEMCELL, FARE RIFERIMENTO A WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE.

Copyright © 2021 di STEMCELL Technologies Inc. Tutti i diritti riservati, compresa grafica e immagini. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, e RosetteSep sono marchi commerciali di STEMCELL Technologies Canada Inc. Lymphoprep è un marchio di fabbrica di Alere Technologies. Tutti gli altri marchi commerciali sono di proprietà dei rispettivi detentori. Sebbene STEMCELL abbia compiuto ogni ragionevole sforzo per assicurarsi che le informazioni fornite da STEMCELL e dai suoi fornitori sono corrette, non si danno garanzie né assicurazioni in merito all'accuratezza o completezza di tali informazioni.

RosetteSep™ HLA B Cell Enrichment Cocktail



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

TOLL FREE PHONE 1 800 667 0322 • PHONE +1 604 877 0713
INFO@STEMCELL.COM • TECHSUPPORT@STEMCELL.COM
FOR GLOBAL CONTACT DETAILS VISIT OUR WEBSITE

Catalog #15664HLA 5 x 2 mL Zur Verarbeitung von 250 mL Vollblut
Catalog #15684HLA 20 x 2 mL Zur Verarbeitung von 1000 mL Vollblut

Document #1000009597 | Version 02

DEUTSCH

Produktbeschreibung

Anreichern unberührter und hochgereinigter B-Zellen direkt aus menschlichem Vollblut mit negativer Selektion.

- Schnell und einfach zu bedienen
- Erfordert keine spezielle Ausrüstung oder Training
- Isolierte Zellen sind unberührt
- Kann mit SepMate™ für eine konsistente Probenverarbeitung mit hohem Durchsatz kombiniert werden

Dieses Kit zielt auf Nicht-B-Zellen zur Entfernung mit Antikörpern ab, die spezifische Zelloberflächenmarker erkennen. Der RosetteSep™ Antikörper-Cocktail vernetzt unerwünschte Zellen im menschlichen Vollblut mit mehreren roten Blutkörperchen (RBCs) und bildet so Immunrosetten. Dies erhöht die Dichte der unerwünschten (rosettierten) Zellen, so dass sie zusammen mit den freien RBCs pelletieren, wenn sie über einem Dichtegradientenmedium zentrifugiert werden. Gewünschte Zellen werden nie mit Antikörper markiert und können leicht als hochangereicherte Population an der Grenzfläche zwischen Plasma und Dichtegradientenmedium angesammelt werden. Isolierte Zellen stehen sofort für weitere Anwendungen wie Durchflusszytometrie, Zellkultur oder DNA/RNA-Extraktion zur Verfügung.

Qualitätskontrolle

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.

Komponentenbeschreibungen

KOMPONENTENNAME	KOMPONENTEN-NUMMER	MENGE	LAGERUNG	STABILITÄT	FORMAT
RosetteSep™ HLA B Cell Enrichment Cocktail	15024HC.1	2 mL	Bei 2 - 8 °C aufbewahren. Nicht einfrieren.	Produkt Komponenten bis zum Verfallsdatum auf dem Etikett stabil.	Eine Kombination aus monoklonalen Antikörpern in PBS.

PBS - phosphatgepufferte Kochsalzlösung

Die Komponenten können bei Raumtemperatur (15 - 25 °C) versandt werden, sollten jedoch wie oben angegeben gelagert werden.

Im Reaktionsgefäß kann ein Niederschlag beobachtet werden, der jedoch keinen Effekt auf die Effizienz hat.

Erforderliche, aber nicht Bereitgestellte Materialien

RosetteSep™ DM-L Density Medium (Katalognr. 15705), Lymphoprep™ (Katalognr. 07801), oder ein anderes Dichtegradienten-Medien mit einer Dichte von 1,077 g/mL.

Empfohlenes Medium

Phosphat-Kochsalzlösung mit 2% fetalem Rinderserum (Katalognr. 07905).

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free-number: 00800 7836 2355

E-mail: techsupport@stemcell.com

Document #1000009597

Version 02

2021

Handhabung und Anwendungshinweise

Stellen Sie sicher, dass die Blutprobe, das empfohlene Medium, das Dichtegradienten-Medium und die Zentrifuge Zimmertemperatur (15 - 25°C) haben.

- RosetteSep™ HLA Cocktail zu 40 µL/mL Vollblut* hinzugeben (z.B. bei 2 mL Vollblut 80 µL Cocktail hinzugeben). Gut mischen. Falls keine Vollblut-Proben verwendet werden, lesen Sie bitte den Abschnitt Hinweise und Tipps.
HINWEIS: Cocktail nicht vortexen.
- 20 Minuten bei Zimmertemperatur (15 - 25°C) inkubieren.
- Probe mit einem gleichen Volumen von Empfohlenes Medium verdünnen und vorsichtig mischen.
- Die verdünnte Probe auf dem Dichtegradienten-Medium aufschichten
ODER
Das Dichtegradienten-Medium unter die verdünnte Probe schichten. Vermeiden Sie dabei die Vermischung von Dichtegradienten-Medium und Probe.
HINWEIS: Empfohlene Volumina siehe Tabelle 1. Bei der Verwendung von 50 mL konische Röhren (z.B. Katalognr. 38010), empfehlen wir mindestens 15 mL Dichtegradienten-Medium, um das Abnehmen der angereicherten Zellen zu vereinfachen.
- 20 Minuten bei 1200 x g (siehe Hinweise und Tipps) bei Zimmertemperatur (15 - 25°C) ohne Bremse zentrifugieren.
- Zielzellen vom Dichtegradienten-medium entfernen : Interphase.
HINWEIS: 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.
- Angereicherte Zellen mit Empfohlenes Medium waschen. Wiederholen.
- Angereicherte Zellen wie gewünscht verwenden. Wenn Sie die Zellreinheit mittels einer Durchflusszytometrie bewerten möchten, empfehlen wir, die angereicherten Proben mit Ammoniumchloridlösung (Katalognr. 07800) zu lysieren, um Rückstände von RBK zu entfernen (dies kann während des Waschvorgangs erfolgen).

Tabelle 1. Empfohlene Volumina und Röhrchengrößen

VOLLBLUT	EMPHOLENES MEDIUM	RÖHRCHEN-GRÖSSE	DICHTEGRADIEN-TE N-MEDIUM
1 mL	1 mL	5 mL	1,5 mL
2 mL	2 mL	14 mL	3 mL
3 mL	3 mL	14 mL	3 mL
4 mL	4 mL	14 mL	4 mL
5 mL	5 mL	50 mL	15 mL
10 mL	10 mL	50 mL	15 mL
15 mL	15 mL	50 mL	15 mL

Hinweise und Tipps

ALTERNATIVE PROBEN ZU VOLLBLUT

Obwohl RosetteSep™ für die Verwendung mit Vollblut optimiert wurde, können Zellen auch aus anderen erythrocytenhaltigen Probenmaterialien angereichert werden (z.B. Buffy-Coat, Leukapherese-Proben). Die Konzentration der kernhaltigen Zellen in der Probe sollte 5×10^7 Zellen/mL nicht überschreiten. RBK sollten mindestens im Verhältnis von 100 RBK pro kernhaltige Zelle vorliegen.

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: RZB = Relative Zentrifugalbeschleunigung (g)
UpM = Umdrehung pro Minut
Radius = Rotorradius (cm)

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713
European toll-free-number: 00800 7836 2355
E-mail: techsupport@stemcell.com

REINHEITSANALYSE

Benutzen Sie die folgenden fluorochrom-konjugierten Antikörperklone für die Reinheitsanalyse der B-Zellen (CD19+) durch Durchflusszytometrie:

- Anti-Human CD19 Antibody, Clone H1B19 (Katalognr. 60005), oder
- Antii-Human CD20 Antibody, Clone 2H7 (Katalognr. 60008)

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
15064HLA/15084HLA	B-Zellen (CD19+)	> 65%

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, kontaktieren Sie uns unter techsupport@stemcell.com.

DIE PRODUKTE SIND NUR FÜR FORSCHUNGSZWECKE UND NICHT FÜR DIE DIAGNOSTISCHE ODER THERAPEUTISCHE ZWECKE BEIM MENSCH ODER TIER BESTIMMT, SOFERN NICHT ANDERS ANGEZEIGT. WEITERE INFORMATIONEN ZUR QUALITÄT BEI STEMCELL FINDEN SIE AUF WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE.

Copyright © 2021 by STEMCELL Technologies Inc. Alle Rechte vorbehalten, einschließlich Grafiken und Abbildungen. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, und RosetteSep sind eingetragene Handelsmarken der STEMCELL Technologies Canada Inc. Lymphoprep ist eine Marke der Alere Technologies. Alle anderen Handelsmarken sind das Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber. STEMCELL hat sich zwar angemessen bemüht sicherzustellen, dass die von STEMCELL und deren Zulieferern zur Verfügung gestellten Informationen zutreffend sind, leistet jedoch keine Garantien oder Zusicherungen hinsichtlich der Richtigkeit oder Vollständigkeit dieser Informationen.