

RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Kit



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

Document #1000009621 | Version 02

ENGLISH

Product Description

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

Quality Control

RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail (Catalog #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 (Catalog #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.

Component Descriptions

COMPONENT NAME	COMPONENT #	QUANTITY	STORAGE	SHELF LIFE	FORMAT
RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail	15272HC.1	5 x 2 mL	Store at 2 - 8°C. Do not freeze.	Stable until expiry date (EXP) on label.	A combination of monoclonal antibodies in PBS.
RosetteSep™ DM-M Density Medium	15725	2 x 100 mL	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.	Stable until expiry date (EXP) on label.	A density separation medium with a density of 1.085g/mL.

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

0.5 M Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) solution (e.g. Sigma Catalog #E7889).

Recommended Medium

Dulbecco's 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.

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free-number: 00800 7836 2355

E-mail: techsupport@stemcell.com

Document #1000009621

Version 02

2021

Directions for Use

Ensure that blood sample, recommended medium both with and without EDTA, 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 (e.g. Catalog #38010). 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.
NOTE: Do not vortex cocktail.
3. Incubate at room temperature (15 - 25°C) for 20 minutes.
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. Be careful to minimize mixing of the density gradient medium and sample.
6. Centrifuge at 330 x g (see Notes and Tips) for 25 minutes 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. 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 Solution (Catalog #07800) to remove residual RBCs (this can be done as the wash step).

Notes and Tips

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: 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

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 μ L human serum/100 μ L cells.

For purity assessment of myeloid cells (CD33+) by flow cytometry, use the following fluorochrome-conjugated antibody clone:

- Anti-Human CD33 Antibody, Clone P67.6 (Catalog #60126)

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, 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 Myeloid Cell Enrichment Kit

Catalog #15272HLA Pour 20 tests (10 mL de sang total par test)

Document #1000009621 | Version 02



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

FRANÇAIS

Description du Produit

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. 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. Les cellules d'intérêt fortement enrichie 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.

Contrôle de la Qualité

RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail (Référence 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.

RosetteSep™ DM-M Density Medium (Référence N° 15725)

RosetteSep™ DM-M Density Medium est fabriqué en utilisant des technique aseptiques au moyen de processus strictement contrôlés. Chaque lot de RosetteSep™ DM-M Density Medium est testé pour la stérilité selon les méthodes USP.

Descriptions des Composantes

NOM DE LA COMPOSANTE	N° DE LA COMPOSANTE	QUANTITÉ	ENTREPOSAGE	STABILITÉ	FORMAT
RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail	15272HC.1	5 x 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.
RosetteSep™ DM-M Density Medium	15725	2 x 100 mL	Entreposer entre 15 et 25°C. La conservation entre 2 et 8°C est acceptable, mais vérifier que le milieu s'équilibre à 15 - 25°C et retourner la bouteille afin de mélanger le contenu avant utilisation. Protéger de la lumière directe.	Stable jusqu'à la date de péremption (EXP) figurant sur l'étiquette.	Milieu de gradient de densité avec une densité de 1,085 g/mL.

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.

Materiel Nécessaire non Fourni

Solution EDTA 0,5 M (p. 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.

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free-number: 00800 7836 2355

E-mail: techsupport@stemcell.com

Document #1000009621

Version 02

2021

Manipulation et Mode d'Emploi

Vérifier que l'échantillon de sang, le milieu recommandé avec ou sans EDTA RosetteSep™ DM-M Density Medium et la centrifugeuse sont à température ambiante (15 - 25°C).

1. Aliquoter 10 mL de sang total dans un tube de 50 mL (p. ex., Référence N° 38010). 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 (p. ex., pour 10 mL de sang total, ajouter 500 µL de cocktail). Bien mélanger.
EMARQUE: 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 de 10 mL de RosetteSep™ DM-M Density Medium. Eviter de mélanger entre le milieu de gradient de densité et l'échantillon.
5. Centrifuger à 330 x g (cf. Notes et Conseils) pendant 25 minutes à température ambiante (15 - 25°C) sans frein.
6. Récupérer les cellules enrichies du RosetteSep™ DM-M Density Medium 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 PBS + 2% FBS.
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).

Notes et Conseils

MILIEU DE GRADIENT DE DENSITÉ

RosetteSep™ DM-M Density Medium 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 :
 FCR = force centrifuge relative (g)
 tr/min = vitesse centrifuge en tour par minute
 Radius = rayon du moteur (cm)

ÉVALUATION DE LA PURETÉ

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.

Pour évaluer la pureté des cellules myéloïdes (CD33+) par cytométrie de flux, utiliser le clone d'anticorps conjugué au fluorochrome suivant:

- Anti-Human CD33 Antibody, Clone P67.6 (Référence N° 60126)

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
15272HLA	Cellules myéloïdes (CD33+)	> 85%

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 certaine 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 Myeloid Cell Enrichment Kit



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 #15272HLA Para 20 pruebas (10 mL de sangre total por prueba)

Document #10000009621 | Version 02

ESPAÑOL

Descripción del Producto

Los cócteles de enriquecimiento celular RosetteSep™ están diseñados para enriquecer in vitro ciertas subpoblaciones celulares a partir de sangre total humana. 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), para que se precipiten junto a los eritrocitos libres cuando se centrifugan en un medio de gradiente de densidad. 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.

Control de Calidad

RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail (No. de catálogo 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 y de control de calidad con pruebas de rendimiento en ensayos de separación celular con sangra total humana.

RosetteSep™ DM-M Density Medium Catalogue (No. de catálogo 15725)

RosetteSep™ DM-M Density Medium se fabrica de forma aséptica utilizando procesos estrictamente controlados.

Cada lote de RosetteSep™ DM-M Density Medium se somete a pruebas de esterilidad según los métodos USP.

Descripción de Componentes

NOMBRE DEL COMPONENTE	COMPONENTE Nº	CANTIDAD	ALMACENAMIENTO	VIDA ÚTIL	FORMATO
RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail	15272HC.1	5 x 2 mL	Almacenar entre 2 a 8°C. No congelar.	Estable hasta la fecha de vencimiento (EXP) de la etiqueta.	Una combinación de anticuerpos monoclonales en PBS.
RosetteSep™ DM-M Density Medium	15725	2 x 100 mL	Almacenar entre 15 y 25°C. El almacenamiento a temperaturas entre 2 y 8°C es aceptable, pero es necesario asegurarse de que el medio se atempera entre 15 y 25°C e invertir el frasco para mezclar el contenido antes de su uso. Proteger de la luz directa	Estable hasta la fecha de vencimiento (EXP) de la etiqueta	Medio de gradiente de densidad con una densidad de 1,085 g/mL.

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

Solución de EDTA 0,5 M (p. ej., solución de ácido etilendiaminotetraacético, sal disódica, 0,5 M, No. de catálogo E7889 de Sigma).

Medio Recomendado

Tampón fosfato salino con 2% de suero fetal bovino (PBS + 2% FBS, No. 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.

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free-number: 00800 7836 2355

E-mail: techsupport@stemcell.com

Document #10000009621

Version 02

2021

Manipulación e Instrucciones de Uso

Asegurarse de que la muestra de sangre, el medio recomendado con y sin EDTA, RosetteSep™ DM-M Density Medium y la centrífuga estén a temperatura ambiente (15 - 25°C).

1. Alicuotar 10 mL de sangre total en un tubo de 50 mL (p. ej., No. de catálogo 38010). 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.
NOTA: No vortex cóctel.
3. Incubar a temperatura ambiente (15 - 25°C) por 20 minutos.
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 Density Medium. Ponga atención para minimizar la posibilidad de que el medio de densidad se mezcle con la muestra.
6. Centrifugar a 330 x g (consulte las Notas y Consejos) por 25 minutos a temperatura ambiente (15 - 25°C) sin freno.
7. Retirar las células enriquecidas de la interfase entre el RosetteSep™ DM-M Density Medium 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.
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 una solución de cloruro de amonio (No. de catálogo 07800) para eliminar los eritrocitos residuales (esto se puede realizar como el paso de lavado).

Notas y Consejos

MEDIO DE DENSIDAD

RosetteSep™ DM-M Density Medium 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: RCF = fuerza centrífuga relativa (g)
RPM = velocidad de centrifugado en revoluciones por minuto
Radio = radio del rotor (cm)

EVALUACIÓN DE LA PUREZA

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.

Para la evaluación de la pureza de la células mieloides (CD33+) por citometría de flujo, utilice el siguiente clon de anticuerpo conjugado con fluorocromo:

- Anti-Human CD33 Antibody, Clone P67.6 (No.de catálogo 60126)

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, 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 Myeloid Cell Enrichment Kit



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 #15272HLA Per 20 test (10 mL di sangue intero per test)

Document #1000009621 | Version 02

ITALIANO

Descrizione del Prodotto

I cocktail di arricchimento cellulare RosetteSep™ sono destinati all'arricchimento in vitro di sottoinsiemi cellulari specifici dal sangue umano intero. 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 (rosettate) indesiderate, che si depositeranno sul fondo insieme ai globuli rossi liberi quando sono centrifugate su un mezzo gradiente di densità. 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.

Controlli di Qualità

RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail (Nr. di catalogo 15272HC.1)

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.

RosetteSep™ DM-M Density Medium (Nr. di catalogo 15725)

RosetteSep™ DM-M Density Medium è prodotto utilizzando una tecnica asettica e dei processi altamente controllati.

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

Descrizione dei Componenti

NOME DEL COMPONENTE	COMPONENTE NO.	CANTIDAD	CONSERVAZIONE	STABILITÀ	FORMATO
RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail	15272HC.1	5 x 2 mL	Conservare a 2 - 8°C. Non congelare.	Stabile fino alla data di scadenza (EXP) sull'etichetta.	Una combinazione de anticuerpos monoclonales en PBS.
RosetteSep™ DM-M Density Medium	15725	2 x 100 mL	Conservare a 15 - 25°C. Lo stoccaggio a 2 - 8°C è accettabile, ma accertarsi che il mezzo si equilibri a 15 - 25°C e rovesciare il contenitore per mischiare il contenuto prima dell'uso. Tenere lontano dalla luce diretta.	Stabile fino alla data di scadenza (EXP) sull'etichetta.	Mezzo gradiente di densità con una densità di 1,085 g/mL.

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

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

Mezzo Consigliato

Tampone fosfato salino con siero fetale bovino al 2% (PBS + 2% FBS, Nr di 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.

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free-number: 00800 7836 2355

E-mail: techsupport@stemcell.com

Document #1000009621

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. Aliquotare 10 mL di sangue intero in una provetta da 50 mL (ad es. Nr. di catalogo 38010). 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.
NOTA: Non vortice cocktail.
3. Incubare a temperatura ambiente (15 - 25°C) per 20 minuti.
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 RosetteSep™ DM-M Density Medium. Fare attenzione a minimizzare la mescolatura del mezzo gradiente di densità del campione.
6. Centrifugare a 330 x g (cfr. Note e Suggerimenti) per 25 minuti a temperatura ambiente (15 - 25°C) con il freno disattivato.
7. Togliere le cellule arricchite dall'interfaccia RosetteSep™ DM-M Density Medium : 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.
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 una soluzione di cloruro di ammonio (Nr. di catalogo 07800) onde rimuovere i globuli rossi residui (questa operazione può essere effettuata durante il lavaggio).

Note e Suggerimenti

MEZZO DI DENSITÀ

RosetteSep™ DM-M Density Medium 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: RCF = forza centrifuga relativa (g)
RPM = velocità centrifuga in giri al minuto
Raggio = raggio del rotore (cm)

VALUTAZIONE DELLA PUREZZA

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.

Per la valutazione della purezza dei cellule mieloidi (CD33+) tramite citometria a flusso, usare il seguente clone di anticorpi coniugato al fluorocromo:

- Anti-Human CD33 Antibody, Clone P67.6 (Nr. di catalogo 60126)

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 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, contattate il supporto tecnico.

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 Myeloid Cell Enrichment Kit



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 #15272HLA Für 20 Tests (10 mL Vollblut pro Test)

Document #10000009621 | Version 02

DEUTSCH

Produktbeschreibung

RosetteSep™ Cocktails zur Zellanreicherung wurden zur in-vitro-Anreicherung spezifischer Zell-Populationen aus humanen erythrocytenhaltigen Probenmaterial, einschließlich Vollblut, hergestellt. 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 nach unten zentrifugiert werden. Die unmarkierten Zielzellen finden sich als hoch angereicherte Population in der Interphase zwischen Plasma und Dichtegradientenmedium.

Qualitätskontrolle

RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail (Katalognr. 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 (Katalognr. 15725)

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.

Komponentenbeschreibungen

KOMPONENTENNAME	KOMPONENTEN- NUMMER	MENGE	LAGERUNG	STABILITÄT	FORMAT
RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail	15272HC.1	5 x 2mL	Bei 2 - 8 °C aufbewahren. Nicht einfrieren.	Produkt Komponenten bis zum Verfallsdatum auf dem Etikett stabil.	Eine Kombination aus monoklonalen Antikörpern in PBS.
RosetteSep™ DM-M Density Medium	15725	2 x 100 mL	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 der Inhalt sich vermischen kann. Vor direkter Lichteinstrahlung schützen.	Produkt Komponenten bis zum Verfallsdatum auf dem Etikett stabil.	Ein Dichtegradienten-Medium mit einer Dichte von 1,085 g/mL.

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

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.

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free-number: 00800 7836 2355

E-mail: techsupport@stemcell.com

Document #10000009621

Version 02

2021

Handhabung und Anwendungshinweise

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

- 10 mL Vollblut in ein 50 mL Röhrchen (z.B. Katalognr. 38010) aliquotieren. Falls gewünscht, ein kleines Blut-Aliquot (500 µL) zur Durchflusszytometrie der Ausgangsprobe zurückbehalten.
- RosetteSep™ HLA Cocktail zu 50 µL/mL Vollblut hinzugeben (z. B. bei 10 mL Vollblut 500 µL Cocktail hinzugeben). Gut mischen.
HINWEIS: Cocktail nicht vortexen.
- 20 Minuten bei Zimmertemperatur (15 - 25°C) inkubieren.
- Probe mit einem gleichen Volumen von PBS + 2% FBS mit EDTA verdünnen und vorsichtig mischen.
- Die verdünnte Probe auf 10 mL RosetteSep™ DM-M Density Medium aufschichten. Vermeiden Sie dabei die Vermischung von Dichtegradienten-Medium und Probe.
- 25 Minuten bei 330 x g (siehe Anmerkungen) bei Zimmertemperatur (15 - 25°C) ohne Bremse zentrifugieren.
- Die angereicherten Zellen vom RosetteSep™ DM-M Density 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 PBS + 2% FBS waschen.
- 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).

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)

REINHEITSANALYSE

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.

Benutzen Sie die folgenden fluorochrom-konjugierte Antikörperklon für die Reinheitsanalyse der Myeloide Zellen (CD33+) durch Durchflusszytometrie:

- Anti-Human CD33 Antibody, Clone P67.6 (Katalognr. 60126)

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.

DIE PRODUKTE SIND NUR FÜR FORSCHUNGSZWECKE UND NICHT FÜR DIE DIAGNOSTISCHE ODER THERAPEUTISCHE ZWECKE BEIM MENSCH ODER TIER BESTIMMT, SOFERN NICHT ANDERS ANGEGEBEN. 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.