



## RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Kit

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

### 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, 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 **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.

#### COMPONENT DESCRIPTIONS

COMPONENT NAME	COMPONENT #	QUANTITY	FORMAT
RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail	15271HC.1	5 x 2 mL	A combination of monoclonal antibodies in PBS.
RosetteSep™ DM-M Density Medium	15725	2 x 100 mL	A density separation medium with a density of 1.085 g/mL.

PBS - phosphate-buffered saline

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

#### SPECIAL MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

##### Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) solution

0.5 M EDTA solution (e.g. Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt solution, 0.5M, 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.

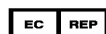
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

#### 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 3.3.0

2017

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 (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.
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 density gradient medium and sample.*

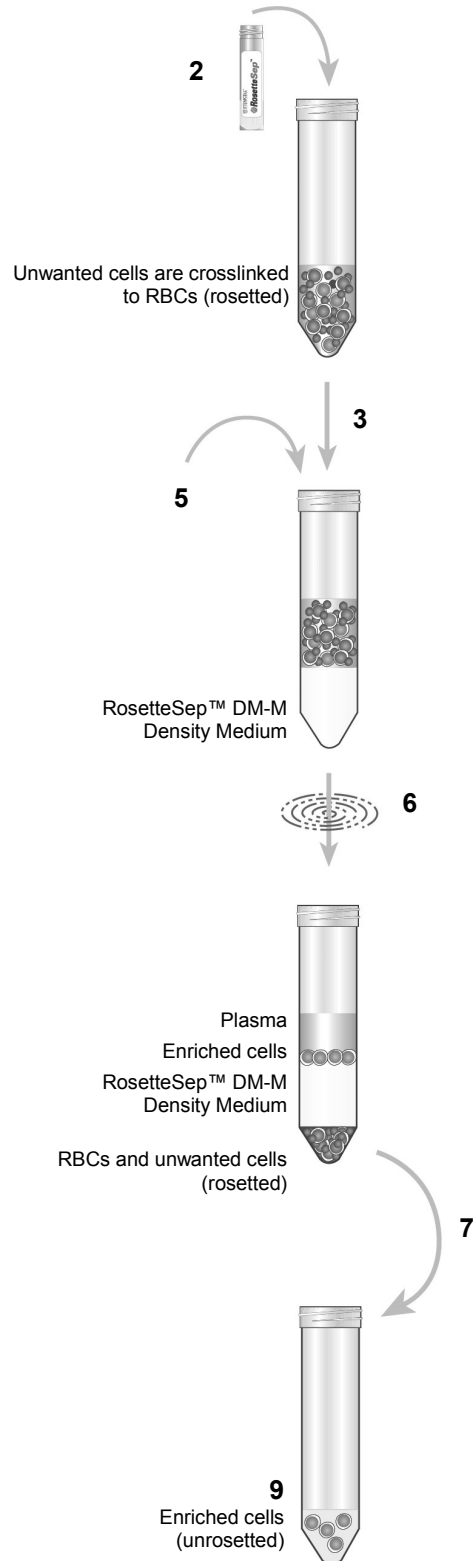
6. Centrifuge at 330 x g (see Notes) for **25 minutes** at room temperature (15 - 25°C) with the brake off.
7. Remove the enriched cells from the RosetteSep™ DM-M Density Medium : plasma interface.

*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).

## 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 3.3.0

2017

## 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:

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

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

### Assessing Purity

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.









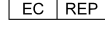
For purity assessment of myeloid cells (CD33+) by flow cytometry use the following fluorochrome-conjugated antibody clone:

- 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%

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

## 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 technical support.

 MDSS GmbH

Schiffgraben 41  
30175 Hannover, Germany

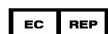
STEMCELL TECHNOLOGIES INC.'S QUALITY MANAGEMENT SYSTEM IS CERTIFIED TO ISO 13485. PRODUCTS ARE FOR PROFESSIONAL IN VITRO DIAGNOSTIC USE.

Copyright © 2017 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. 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.

 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 3.3.0  
2017

## FRANÇAIS

### RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Kit

**REF** 15272HLA Pour 20 tests (10 mL de sang total par test)

#### 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.

#### DESCRIPTION DU PRODUIT

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 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.

#### CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

**RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail** **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.

**RosetteSep™ DM-M Density Medium** **REF** N° : 15725

RosetteSep™ DM-M Density Medium est fabriqué en utilisant des techniques aseptiques au moyen de processus strictement contrôlés.

Chaque lot de RosetteSep™ DM-M Density Medium est testé pour la stérilité selon les méthodes USP.

#### CONSERVATION ET STABILITÉ

**RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail** **REF** N° : 15272HC.1

Conserver entre 2 et 8°C. Ce produit peut être transporté à 15 - 25°C, mais doit être réfrigéré dès sa réception. Ne pas congeler. Le produit est stable à 2 - 8°C jusqu'à sa date d'expiration indiquée sur l'étiquette.

**RosetteSep™ DM-M Density Medium** **REF** N° : 15725

Conserver entre 15 et 25°C. La conservation entre 2 et 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. Le produit est stable à 15 - 25°C jusqu'à sa date d'expiration indiquée 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.

## DESCRIPTIONS DES COMPOSANTES

NOM DE LA COMPOSANTE	N° DE LA COMPOSANTE	QUANTITÉ	FORMAT
RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail	15272HC.1	5 x 2 mL	Combinaison d'anticorps monoclonaux en PBS.
RosetteSep™ DM-M Density Medium	15725	2 x 100 mL	Milieu de gradient de densité avec une densité de 1,085 g/mL.

PBS - solution saline tamponnée au phosphate

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

## MATÉRIEL SPÉCIAL NÉCESSAIRE NON FOURNI

### Solution d'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA)

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.

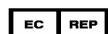
 **STEMCELL Technologies Inc** | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | [www.stemcell.com](http://www.stemcell.com)

#### For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free number: 00800 7836 2355

E-mail: [techsupport@stemcell.com](mailto:techsupport@stemcell.com)



**MDSS GmbH**

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.3.0

2017

Page 4 of 15

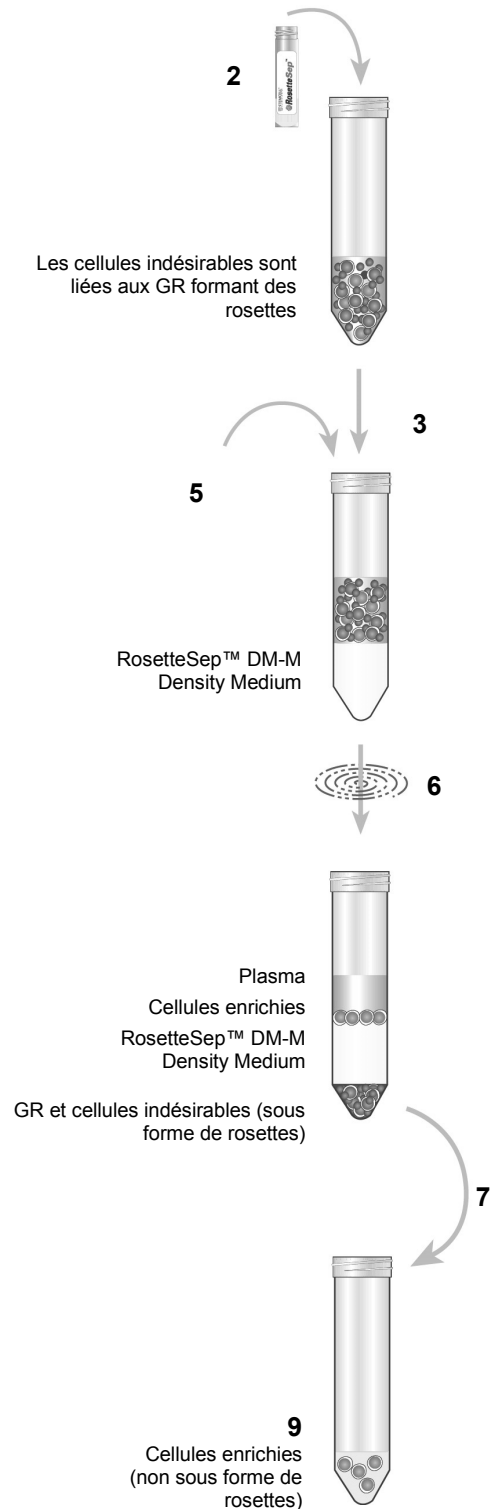
## MANIPULATION ET MODE D'EMPLOI

Vérifier que l'échantillon de sang, le milieu recommandé avec ou sans EDTA (cf. Matériel Spécial Nécessaire non Fourni), 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.
  3. Incuber à température ambiante (15 - 25°C) pendant **20 minutes**.
  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 RosetteSep™ DM-M Density Medium.  
*Eviter de mélanger entre le milieu de gradient de densité et l'échantillon.*
  6. Centrifuger à 330 x g (cf. Notes) pendant **25 minutes** à température ambiante (15 - 25°C), sans frein.
  7. Récupérer les cellules enrichies du RosetteSep™ DM-M Density Medium 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. 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 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).

## 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](http://www.stemcell.com)

### For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free number: 00800 7836 2355

E-mail: [techsupport@stemcell.com](mailto:techsupport@stemcell.com)



**MDSS GmbH**

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.3.0

2017

Page 5 of 15

## NOTES

### 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 :  
tr/min = vitesse centrifuge en tour par minute  
FCR = force centrifuge relative (g)  
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	PURETE
15272HLA	Cellules myéloïdes (CD33+)	> 85%









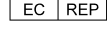
## ASSISTANCE TECHNIQUE

Pour joindre l'assistance technique, prendre contact avec nous à l'adresse : [techsupport@stemcell.com](mailto: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](http://www.stemcell.com).

Si vous avez besoin d'une copie imprimée ou d'une version de ce document dans une certaine langue, prendre contact avec 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 CE autorisé dans la Communauté européenne

LE SYSTEME DE GESTION DE LA QUALITE DE STEMCELL TECHNOLOGIES INC. EST CERTIFIE ISO 13485. LES PRODUITS SONT RESERVES A L'USAGE DIAGNOSTIQUE PROFESSIONNEL *IN VITRO*.

Copyright © 2017 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. 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.

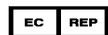
 **STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | [www.stemcell.com](http://www.stemcell.com)**

### For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free number: 00800 7836 2355

E-mail: [techsupport@stemcell.com](mailto:techsupport@stemcell.com)



**MDSS GmbH**

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.3.0

2017

Page 6 of 15

**RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Kit**

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

**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), 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 Kit** **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 y de control de calidad con pruebas de rendimiento en ensayos de separación celular con sangra total humana.

**RosetteSep™ DM-M Density Medium** **REF** N.º 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.

**ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD****RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Kit** **REF** N.º 15272HC.1

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

**RosetteSep™ DM-M Density Medium** **REF** N.º 15725

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 atempere 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 15 a 25°C hasta la fecha de vencimiento 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 ingesta.

**DESCRIPCIÓN DE COMPONENTES**

NOMBRE DE COMPONENTE	COMPONENTE NO.	CANTIDAD	FORMATO
RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail	15272HC.1	5 x 2 mL	Una combinación de anticuerpos monoclonales en PBS.
RosetteSep™ DM-M Density Medium	15725	2 x 100 mL	Medio de gradiente de densidad con una densidad de 1,085 g/mL.

PBS - tampón fosfato salino

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

## 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, 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.

## 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 Density Medium y la centrifugación estén a temperatura ambiente (15 - 25°C).

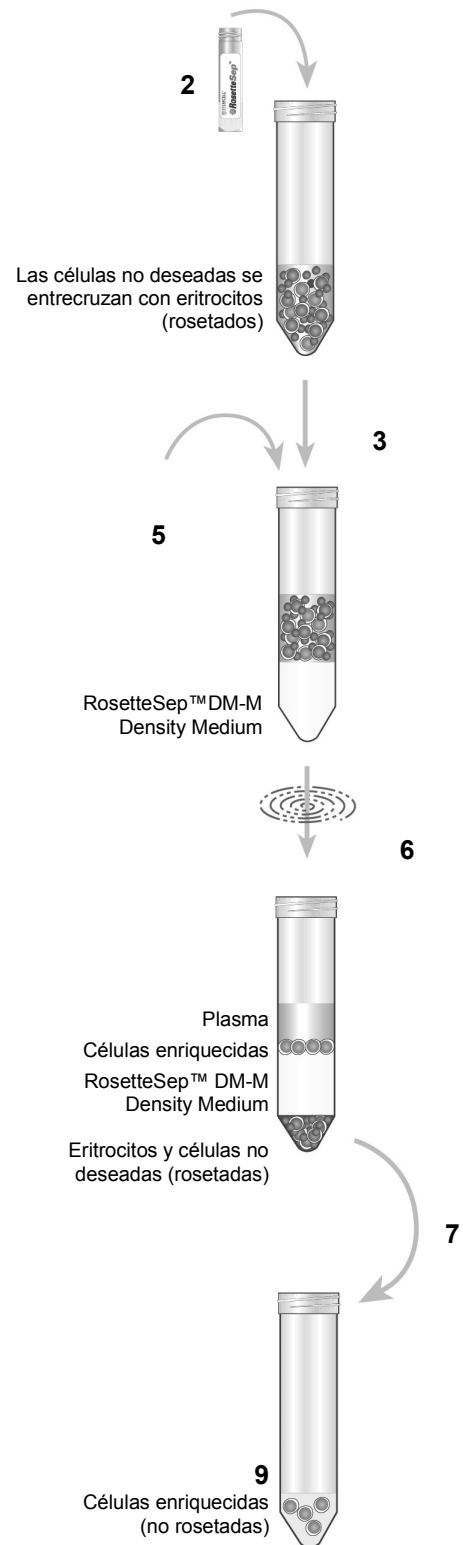
1. Alicuotar 10 mL de sangre total en un tubo de 50 mL (p. ej., No. de catálogo 38010). Si se desea, se puede reservar una pequeña alícuota de sangre (500 µL) para un análisis por citometría de flujo de la muestra inicial.
  2. Añadir cóctel de RosetteSep™ HLA en una proporción de **50 µL/mL** de sangre total (p. ej., para 10 mL de sangre total, añadir 500 µL de cóctel). Mezclar bien.
  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 gradiente de densidad se mezcle con la muestra.*
6. Centrifugar a 330 x g (consulta las Notas) por **25 minutos** a temperatura ambiente (15 - 25°C) y 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).

## PROCEDIMIENTO ROSETTESEP™

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





## NOTAS

### 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:

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

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

### Evaluación de la pureza

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, Clon 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](mailto: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](http://www.stemcell.com).

Si necesita una copia impresa o una versión traducida de este documento, contacte el servicio de asistencia técnica.

**EC REP MDSS GmbH**

Schiffgraben 41  
30175 Hannover, Germany

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

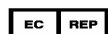
EL SISTEMA DE GESTION DE CALIDAD DE STEMCELL TECHNOLOGIES INC. POSEE CERTIFICACION ISO 13485. LOS PRODUCTOS SON PARA USO PROFESIONAL EN DIAGNOSTICOS IN VITRO.

Copyright © 2017 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. 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.

 **STEMCELL Technologies Inc** | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | [www.stemcell.com](http://www.stemcell.com)

### For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713  
European toll-free number: 00800 7836 2355  
E-mail: [techsupport@stemcell.com](mailto:techsupport@stemcell.com)



**MDSS GmbH**  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover • Germany



Document #29683  
Version 3.3.0  
2017

## ITALIANO

### RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Kit

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

#### 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 (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** **REF** N. 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** **REF** N. 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.

#### CONSERVAZIONE E LA STABILITÀ

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

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.

**RosetteSep™ DM-M Density Medium** **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.

#### DESCRIZIONE DEI COMPONENTI

NOME DEL COMPONENTE	NR. DEL COMPONENTE	QUANTITÀ	FORMATO
RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail	15272HC.1	5 x 2 mL	Combinazione di anticorpi monoclonali in PBS.
RosetteSep™ DM-M Density Medium	15725	2 x 100 mL	Mezzo gradiente di densità con una densità di 1,085 g/mL.

PBS - tampone fosfato salino

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

#### 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, 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.

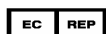
 **STEMCELL Technologies Inc** | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | [www.stemcell.com](http://www.stemcell.com)

#### For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free number: 00800 7836 2355

E-mail: [techsupport@stemcell.com](mailto:techsupport@stemcell.com)



**MDSS GmbH**

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.3.0

2017

Page 10 of 15

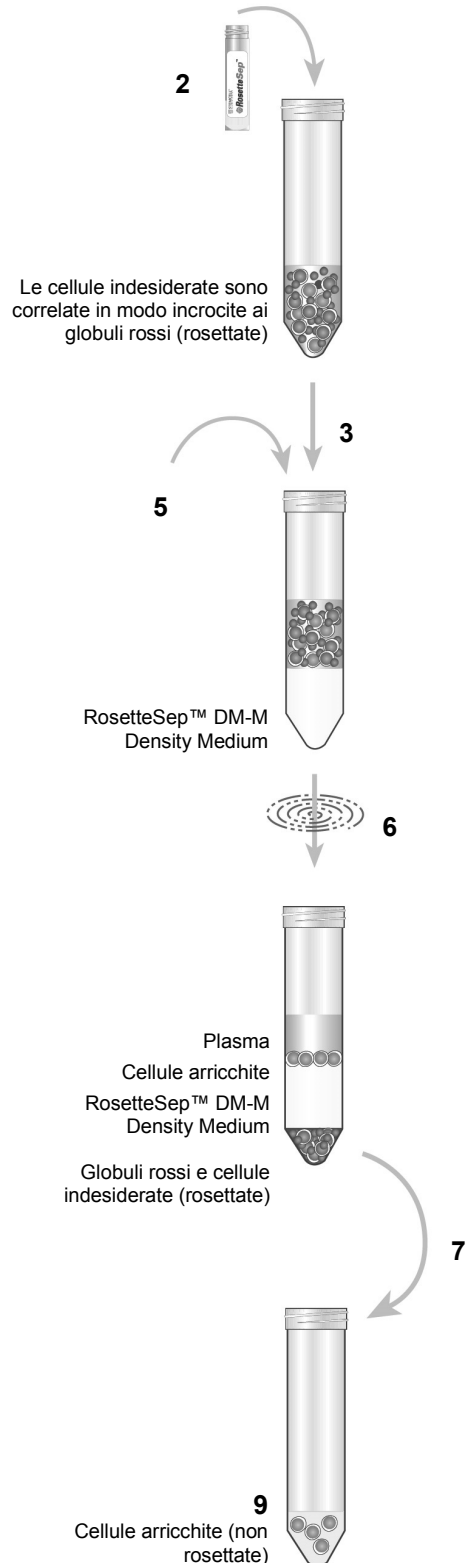
## INDICAZIONI DI UTILIZZO

Accertarsi che il campione di sangue, il mezzo consigliato con e senza EDTA (cfr. Materiali Speciali Richiesti ma non Forniti), RosetteSep™ DM-M Density Medium 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.
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 il mescolamento del mezzo gradient di densità e del campione.*
6. Centrifugare a 330 x g (cfr. Note) 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.  
*Note: 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 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 la soluzione di cloruro di ammonio (Nr. di catalogo 07800) 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.



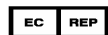
 **STEMCELL Technologies Inc** | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | [www.stemcell.com](http://www.stemcell.com)

### For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European toll-free number: 00800 7836 2355

E-mail: [techsupport@stemcell.com](mailto:techsupport@stemcell.com)



### MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29683

Version 3.3.0

2017

Page 11 of 15

## NOTE

### 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:

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

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

### Valutazione della purezza

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%









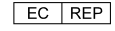
## ASSISTENZA TECNICA

Per assistenza tecnica, contattarci per e-mail all'indirizzo [techsupport@stemcell.com](mailto: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](http://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

IL SISTEMA DI GESTIONE PER LA QUALITÀ DI STEMCELL TECHNOLOGIES INC. È CERTIFICATO ISO 13485. I PRODOTTI SONO DESTINATI ALL'USO DIAGNOSTICO IN VITRO PROFESSIONALE.

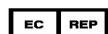
Copyright © 2017 di STEMCELL Technologies Inc. Tutti i diritti riservati, compresa grafica e immagini. STEMCELL Technologies & Design, STEMCELL Shield Design, Scientists Helping Scientists, e RosetteSep sono marchi commerciali di STEMCELL Technologies Canada Inc. Tutti gli altri marchi commerciali sono 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.



STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | [www.stemcell.com](http://www.stemcell.com)

### For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713  
European toll-free number: 00800 7836 2355  
E-mail: [techsupport@stemcell.com](mailto:techsupport@stemcell.com)



### MDSS GmbH

Schiffgraben 41  
30175 Hannover • Germany



Document #29683  
Version 3.3.0  
2017

## DEUTSCH

### RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Kit

REF 15272HLA

Für 20 Tests (10 mL Vollblut pro Test)

## VERWENDUNG

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 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

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

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 Myeloid Cell Enrichment Cocktail

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.

## KOMPONENTENBESCHREIBUNGEN

KOMPONENTEN-NAME	KOMPONENTEN-NUMMER	MENGE	FORMAT
RosetteSep™ HLA Myeloid Cell Enrichment Cocktail	15272HC.1	5 x 2mL	Eine Kombination aus monoklonalen Antikörpern in PBS.
RosetteSep™ DM-M Density Medium	15725	2 x 100 mL	Ein Dichtegradienten-Medium mit einer Dichte von 1,085 g/mL.

PBS - phosphatgepufferte Kochsalzlösung

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

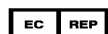
 STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

### 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 3.3.0

2017

Page 13 of 15

## 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.

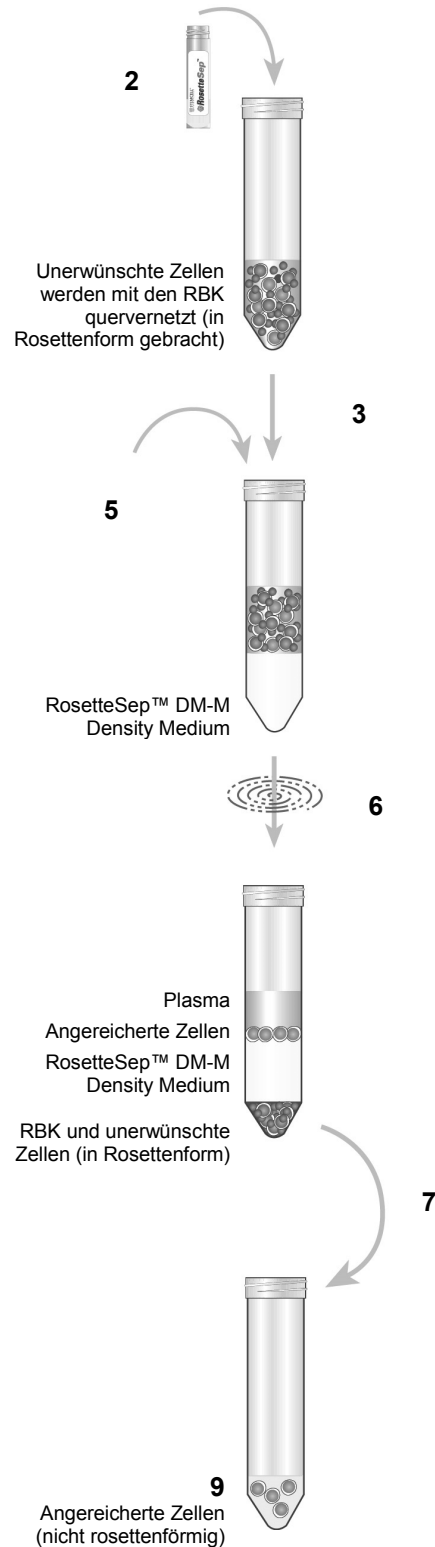
## HANDHABUNG UND ANWENDUNGSHINWEISE

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.

- 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.
- 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 der 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.  
*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.*
- 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).

## ROSETTESEP™-VERFAHREN

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



## ANMERKUNG

### Dichtemedium

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:

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

Wobei: UpM = Umdrehung pro Minute  
RZB = Relative Zentrifugalbeschleunigung (g)  
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 humanes Serum/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









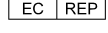
Weitere technische Unterstützung erhalten Sie, indem Sie eine E-Mail an [techsupport@stemcell.com](mailto:techsupport@stemcell.com) senden, oder telefonisch unter **+1.604.877.0713**, oder der Europäischen gebührenfreie Telefonnummer **00800 7836 2355**.

Weitere Informationen finden Sie unter [www.stemcell.com](http://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.

**EC REP 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

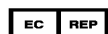
DAS QUALITÄTSMANAGEMENTSYSTEM VON STEMCELL TECHNOLOGIES INC. IST NACH ISO 13485 ZERTIFIZIERT. DIE PRODUKTE SIND ZUR ANWENDUNG FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK DURCH AUSGEBILDETE LABORKRÄFTE BESTIMMT.

Copyright © 2017 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. 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.

 **STEMCELL Technologies Inc** | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | [www.stemcell.com](http://www.stemcell.com)

### For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713  
European toll-free number: 00800 7836 2355  
E-mail: [techsupport@stemcell.com](mailto:techsupport@stemcell.com)



**MDSS GmbH**  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover • Germany



Document #29683  
Version 3.3.0  
2017