

EasySep™ 人 Gamma/Delta T 细胞分选试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #19255

#19255RF RoboSep™

负选

文档号 #1000029442 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

通过免疫磁珠负选, 从新鲜或冻存的人外周血单个核细胞 (PBMCs) 或裂解的白细胞单采术样本中分离出无磁珠标记和高纯度的Gamma/Delta T细胞。

- 操作简单、快捷, 且无需分离柱
- 纯度高达97%
- 分选得到的细胞不带标记

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

如果使用培养扩增的PBMCs, 请联系info.cn@stemcell.com了解更多信息。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ 人Gamma/Delta T分选抗体混合物	19255C	1 x 1 mL	2 - 8°C储存, 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ D2 Magnetic Particles 磁珠	19650	3 x 1 mL	2 - 8°C储存, 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在TBS中的磁珠悬浮液。

PBS - 磷酸盐缓冲液; TBS - TRIS缓冲盐溶液

试剂盒组分可在室温 (15 - 25°C) 下运输, 但应按照上述说明进行储存。

样本制备

有关可用的新鲜样本, 请参见 www.stemcell.com/primarycells。

外周血

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

如果使用冻存的PBMCs, 在室温 (15 - 25°C) 下用终浓度为100 µg/mL的DNase I溶液 (产品号 #07900) 孵育细胞至少15分钟, 再进行标记和分选。使用37 µm的细胞滤筛 (产品号 #27215) 过滤细胞悬液去除细胞团块, 以获得最佳结果。

制备完成后, 将细胞以 5×10^7 细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

* SepMate™ (IVD) 在特定地区作为体外诊断设备使用, 其预期用途是通过密度梯度离心法从全血或骨髓中分离单个核细胞 (MNCs)。SepMate™在符合21 CFR 820标准的cGMP质量管理体系下生产。在其他所有地区, SepMate™仅限于研究用途 (RUO)。

裂解的白细胞单采术样本

1. 将4份氯化铵溶液（产品号 #07800）添加到1份白细胞单采术样本中。

注：如果使用样本体积较大（> 20 mL），请首先以300 x g离心10分钟来浓缩白细胞单采术样本。去除上清液，并用原样本体积的1/10的推荐缓冲液重悬细胞（例如，对于30 mL细胞样本，重悬于3 mL推荐缓冲液中，并添加12 mL氯化铵溶液）。对于小体积样本（≤ 20 mL），将氯化铵溶液直接添加到白细胞单采术样本中。

2. 冰上孵育15分钟。
3. 使用推荐的缓冲液加满试管以清洗细胞。在室温（15 - 25°C）下以300 x g离心10分钟。去除上清液。
4. 可选 (去除血小板):
 - a. 使用推荐的缓冲液加满试管以清洗细胞。在室温下，关闭刹车，将细胞以120 x g离心10分钟。小心地去除上清液。
 - b. 重复步骤4a一次或多次，直至去除大部分血小板（标志是上清液变澄清）。
5. 将细胞以 5×10^7 细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

推荐缓冲液

EasySep™缓冲液（产品号 #20144），RoboSep™缓冲液（产品号 #20104）；或者含2%胎牛血清（FBS）和1 mM EDTA的PBS。缓冲液应该不含Ca⁺⁺和 Mg⁺⁺。

使用指南- EasySep™ 手动实验流程

请参阅第1页和第2页了解样本制备和推荐缓冲液。有关每种磁极的详细使用方法，请参阅表1和表2。

表1. EasySep™ 人Gamma/Delta T细胞分选试剂盒操作流程

		EASYSEPTM磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 "The Big Easy" (产品号 #18001)
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 8.5 mL
	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	在样本中加入分选抗体混合物。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育15分钟	室温孵育15分钟
3	涡旋磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
4	将磁珠加入到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育 10 分钟	室温孵育10分钟
5	添加推荐的缓冲液，将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸 2 - 3 次来混匀。	定容至2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> •若样本 ≤ 4 mL，定容至5 mL •若样本 > 4 mL，定容至10 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
6	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*， 倾倒入上清液至一个新的试管中。	使用新的5 mL 流式管	使用新的14 mL 流式管
7	涡旋磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
8	将磁珠添加到新试管中富集的细胞悬液中。	37.5 µL	<ul style="list-style-type: none"> •若样本 ≤ 4 mL，添加37.5 µL •若样本 > 4 mL，添加75 µL
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
9	从磁极中取出试管，然后将新试管（不加盖）放入 磁极中孵育以进行第二次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
10	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*， 倾倒入上清液至一个新的试管中。	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

*保持磁极和试管倒置2 - 3秒，然后翻转回直立位置。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表2.EasySep™人Gamma/Delta T 细胞分选试剂盒操作流程

		EASYSEPTM磁极
步骤	说明	Easy 50 (产品号 #18002) 
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 1 - 40 mL
	将样本添加到所需的试管中。	50 mL (30 x 115 mm) 锥形管 (如: 产品号 #38010)
2	在样本中加入分选抗体混合物。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育15分钟
3	涡旋磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态	30秒
4	将磁珠加入到样本中。	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育	室温孵育10分钟
5	添加推荐的缓冲液，将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸 2 - 3 次来混匀。	<ul style="list-style-type: none"> ●若样本 ≤ 10 mL, 定容至25 mL ●若样本 > 10 mL, 定容至50 mL
	将试管 (不加盖) 放入磁极中并孵育。	室温孵育10分钟
6	小心地吸出* (切勿倾倒) 富集的细胞悬液至一个新的试管。	使用新的50 mL 锥形管
7	涡旋磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30秒
8	将磁珠添加到新试管中富集的细胞悬液中。	<ul style="list-style-type: none"> ●若样本 ≤ 10 mL, 添加200 µL ●若样本 > 10 mL, 添加400 µL
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟
9	从磁极中取出试管，然后将新试管 (不加盖) 放入磁极中孵育以进行第二次分选。	室温孵育10分钟
10	小心地吸出* (切勿倾倒) 富集的细胞悬液至一个新的试管。	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

* 使用单个移液管一次性收集全部上清液。

使用指南 – RoboSep™ 全自动实验流程

请参阅第1页和第2页了解样本制备和推荐缓冲液。有关RoboSep™的详细使用说明，请参阅表3。

表3. RoboSep™ 人 Gamma/Delta T 细胞分选试剂盒操作流程

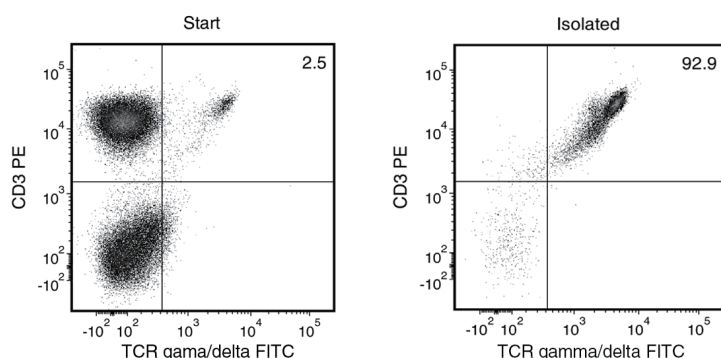
步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)	
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 8.5 mL	
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38008)	
2	选择实验程序。	<ul style="list-style-type: none"> 对于体积 ≤ 4 mL 的样本: 人Gamma-Delta T 细胞负选 19255 - 小体积 对于体积 > 4 mL 的样本: 人Gamma-Delta T 细胞负选 19255 - 大体积 	
3	涡旋磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态	30 秒	
4	加载转盘。	根据屏幕上的提示操作	
	启动实验程序。	按下绿色的“Run (运行)”按钮	
5	运行完成后，卸载转盘。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

注意事项和提示

纯度评估

- 要通过流式细胞术评估gamma/delta T细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：
 - 抗人CD3 抗体，克隆UCHT1（产品号 #60011），以及
 - 抗人TCR gamma/delta抗体（如克隆IMMU510 或 11F2）

实验数据



起始样本为新鲜PBMCs，分选后的gamma/delta T细胞含量（TCR gamma/delta+CD3+）通常为90 - 97%。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为2.5%和92.9%。

产品仅供研究使用。除非另行说明，不可用于人或动物的诊断或治疗。若想了解更多关于产品质量和合规的信息，请访问WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE。

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2025。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies及其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasyEights、EasyPlate、EasySep、SepMate和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。以Lymphoprep品牌销售的产品也是由Serumwerk Bernburg AG生产的。所有商标为各自所有者所有。该试剂盒的用户应确保他们有权使用目的抗体。STEMCELL Technologies Inc.对使用本产品时可能发生的专利侵权或违规行为不承担任何责任。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，但对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。