

## EasySep™人 Naïve CD4+ T 细胞分选试剂盒II



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

可处理  $1 \times 10^9$  个细胞

产品号 #17555

产品号 #17555RF RoboSep™

负选

文档号 #1000029447 | 版本00

### 产品介绍

通过免疫磁珠负选，在11分钟内从新鲜或冻存的人外周血单个核细胞（PBMCs）中分离出无磁珠标记且高纯度的naïve CD4+ T细胞（CD3+CD4+CD45RA+CD45RO-）。

- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- 纯度高达98%
- 获得不带标记的活细胞

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naïve CD4+ 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。

### 包含组分

组分名称	组号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™人Naïve CD4+ T细胞分选抗体混合物II	17555C	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™ Dextran RapidSpheres™ 50103磁珠‡	50103	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在水中的磁珠悬浮液。

PBS - 磷酸盐缓冲液

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。

‡若您使用的是Easy 50 EasySep™磁极，请通过info.cn@stemcell.com联系我们，申请额外的EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50103磁珠。

### 样本制备

有关可用的新鲜和冻存样本，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PBMC（如Human Peripheral Blood Mononuclear Cells, Frozen\*\*，产品号 #70025），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，建议在标记和分选之前，用培养基或缓冲液（如含10% FBS的DMEM、IMDM、RPMI 或PBS）至少清洗细胞两次。为获得最佳效果，请将细胞悬液通过37 µm的细胞滤筛（产品号 #27250）以去除细胞聚团。

制备完成后，将细胞以  $5 \times 10^7$  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）。

\*\* 部分原代细胞产品仅在特定地区提供。如需更多信息，请联系info.cn@stemcell.com。

#### 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。室温（15 - 25°C），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  $5 \times 10^7$  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Naïve CD4+ T细胞分选试剂盒II操作流程

		EASYSEPT™ 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.1 - 2 mL	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.25 - 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5分钟	室温孵育5分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中混匀。	50 µL/mL 样本 不进行孵育，立刻进行下一步骤	50 µL/mL 样本 不进行孵育，立刻进行下一步骤
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"> <li>若样本 &lt; 4 mL，定容至5 mL</li> <li>若样本 ≥ 4 mL，定容至10 mL</li> </ul>
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3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	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3分钟	室温孵育3分钟
8	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒入清液至一个新的试管中。	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

\*保持磁极和流式管倒置 2 - 3秒，然后恢复直立。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表2.EasySep™人Naïve CD4+ T细胞分选试剂盒II操作流程

步骤	说明	EASYSEP™ 磁极		
		 EasyEights™ (产品号 #18103)	 14 mL 流式管	 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 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.25 - 2 mL	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 2 - 8.5 mL	5 x 10 <sup>7</sup> cells/mL 5 - 40 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)	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	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒	30秒
4	将RapidSpheres™磁珠加到样本中混匀。	50 µL/mL 样本 不进行孵育，立刻进行下一步骤	50 µL/mL 样本 不进行孵育，立刻进行下一步骤	100 µL/mL 样本 不进行孵育，立刻进行下一步骤
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	· 若样本 < 4 mL，定容至5 mL · 若样本 ≥ 4 mL，定容至10 mL	· 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5分钟	室温孵育10分钟	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5 mL流式管	使用新的14 mL流式管	使用新的50 mL锥形管
7	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10分钟	室温孵育10分钟
8	小心地吸出**（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管。只收集清澈的部分。	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

‡若您使用的是Easy 50 EasySep™磁极，请通过info.cn@stemcell.com联系我们，申请额外的EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50103磁珠。

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

## 使用指南 – RoboSep™全自动实验流程

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

表3. RoboSep™ 人Naïve CD4+ T细胞分选试剂盒II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 <sup>7</sup> 细胞/mL 1 - 8.5 mL 注意：若起始样本为2.5 - 5 x 10 <sup>7</sup> 个细胞，请用1 mL缓冲液重悬细胞。
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	选择实验程序。	人Naïve CD4+ T细胞分选 II 17555
3	涡旋振荡RapidSpheres™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

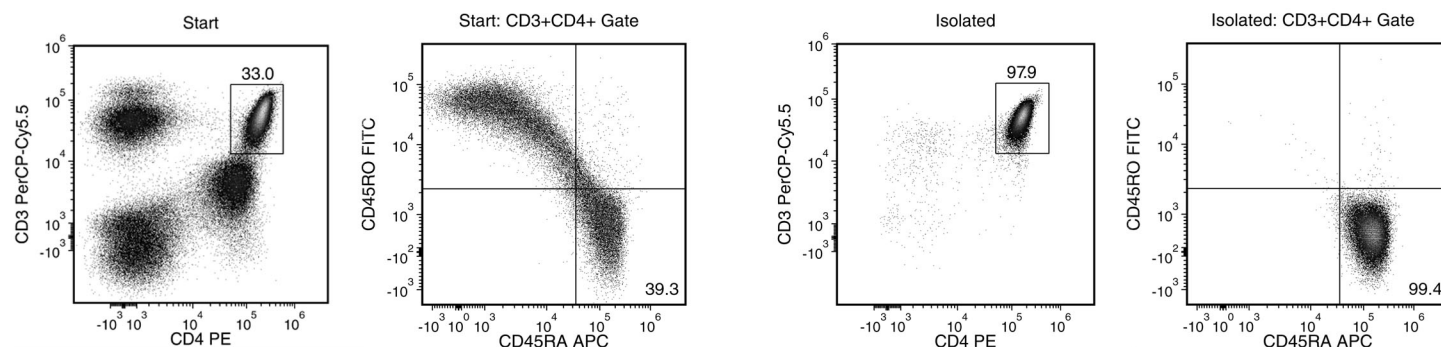
## 注意事项和提示

### 纯度评估

要通过流式细胞术评估naïve CD4+ T细胞 (CD3+CD4+CD45RA+CD45RO-) 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)
- 抗人CD4抗体，克隆OKT4 (产品号 #60016)
- 抗人CD45RO抗体，克隆UCHL1 (产品号 #60097)
- 抗人CD45RA抗体，克隆HI100 (产品号 #100-0316)

## 实验数据



起始样本为新鲜单个核细胞，分选后的naïve CD4+ T细胞含量 (CD3+CD4+CD45RA+CD45RO-) 通常为 96.6 ± 1.5% (使用紫色EasySep™磁极，平均值±标准差)。在上述实验中，起始样本和分选后的细胞纯度分别为13.0%和97.3%。

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](http://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、EasyEight, EasyPlate, EasySep, RapidSpheres, RoboSep, and SepMate均是 STEMCELL Technologies 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。所有商标均为各自所有者所有。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。