

EasySep™ 人 Naïve Pan T 细胞分选试剂盒



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #17961

产品号 #17961RF RoboSep™

负选

文档号 #1000029449 | 版本00

产品介绍

从新鲜或冻存的人外周血单个核细胞 (PBMCs) 或洗涤的白细胞单采术样本中分离出无磁珠标记和高纯度的naïve pan T细胞。

- 操作简单、快捷, 且无需分离柱
- 纯度高达 98%
- 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naïve pan 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	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ 人 Naïve Pan T 细胞分选抗体混合物	17961C	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™ 人 TCR Gamma / Delta 去除抗体混合物	17863C	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存, 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含 0.1% BSA的PBS中的单克隆抗体混合物, 包含Fc受体阻断抗体。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50102 磁珠	50102	2 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。

BSA - 牛血清白蛋白; 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。

样本制备

有关可用的新鲜或冻存样本, 请参见 www.stemcell.com/primarycells。

脐带血

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。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。

如果使用冻存的PBMC, 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 的细胞过滤器 (产品号 #27250) 过滤细胞悬液去除聚团, 以获得最佳结果。制备后, 将细胞以 5×10^7 个细胞/mL 重悬于含2%胎牛血清 (FBS)、不含 EDTA的PBS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)。

白细胞单采术样本

通过添加等体积的推荐缓冲液或含有 2% 胎牛血清 (FBS) 的PBS来清洗外周血白细胞单采术样本。在室温 (15 - 25°C) 下, 300 x g, 离心 10 分钟。如果需要裂解红细胞 (RBC), 请使用氯化铵溶液 (产品号 #07800) 进行裂解。如果需要去除血小板, 请在关闭刹车的情况下以 120 x g 离心 10 分钟。去除上清液, 并将细胞以 5×10^7 细胞/mL 的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

推荐缓冲液

除非另有说明, 请使用EasySep™ 缓冲液 (产品号 #20144)、RoboSep™ 缓冲液 (产品号 #20104) 或含有 2% 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 Pan T 细胞分选试剂盒操作流程

		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 ⁷ 细胞/mL 0.25 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 6 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。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
3	将TCR Gamma/Delta去除抗体混合物添加到样本中。	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
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
5	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	60 µL/mL 样本	60 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育 3 分钟	室温孵育 3 分钟
6	添加推荐缓冲液，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 < 2 mL，定容至 5 mL ● 若样本 ≥ 2 mL，定容至 10 mL
	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
7	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，将富集细胞悬液倾倒入一个新的试管中。	使用新的 5 mL 流式管	使用新的 14 mL 流式管
8	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
9	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，将富集细胞悬液倾倒入一个新的试管中。	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 Naïve Pan T 细胞分选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEPT™磁极		
		 EasyEights™ (产品号 #18103)	 Easy 50 (产品号 #18002)	 Easy 50 (产品号 #18002)
		5 mL 流式管	14 mL 流式管	
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 0.25 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 6 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 5 - 30 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。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
3	将TCR Gamma/Delta去除抗体混合物添加到样本中。	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
4	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
5	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	75 µL/mL 样本	90 µL/mL 样本	90 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育 3 分钟	室温孵育 3 分钟	室温孵育 3 分钟
6	添加推荐缓冲液，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 < 2 mL，定容至 5 mL ●若样本 ≥ 2 mL，定容至 10 mL 	<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	室温孵育 10 分钟	室温孵育 10 分钟
7	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 管	使用新的 14 mL 管	使用新的 50 mL 管
8	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
9	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	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)

** 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 Pan 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 - 6 mL	
	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 Pan T 细胞分选 17961	
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	

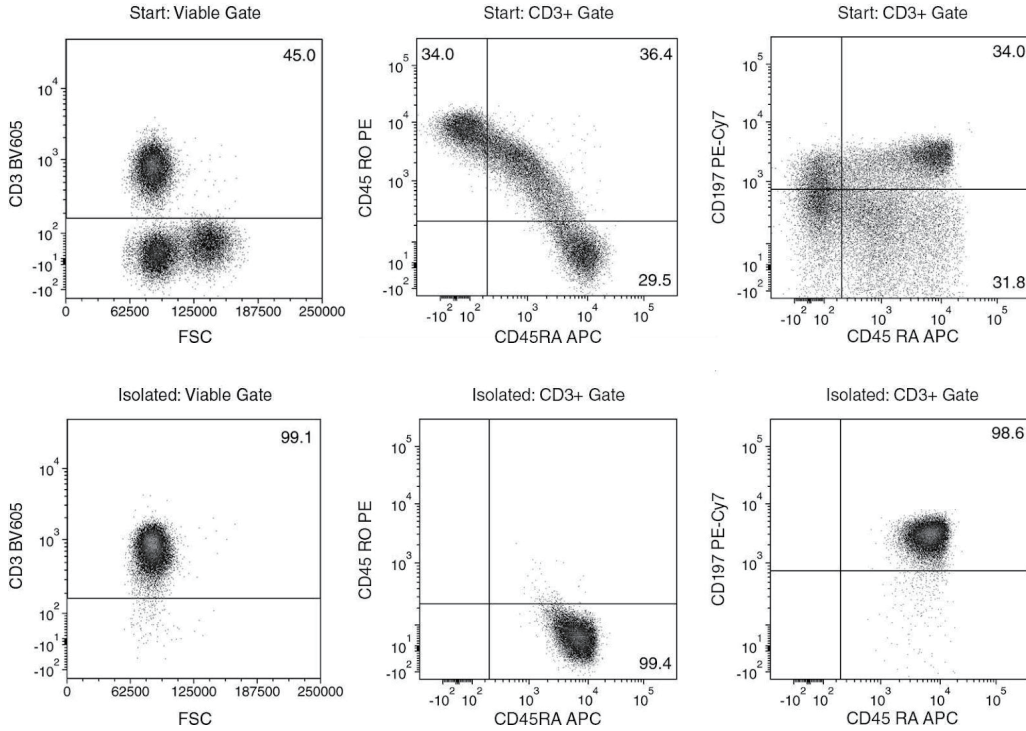
注意事项和提示

纯度评估

要通过流式细胞术评估naïve pan T细胞 (CD3+CD45RA+CD45RO-CD197+) 的纯度，请使用以下克隆号的荧光标记抗体:

- 抗人 CD3 抗体，克隆 UCHT1 (产品号 #60011) 或克隆 SK7 (产品号 #60127)，以及
- 抗人 CD45RO 抗体，克隆 UCHL1 (产品号 #60097)，以及
- 抗人 CD45RA 抗体，以及
- 抗人 CD197 抗体。

实验数据



起始样本为新鲜PBMCs，分选后的naïve pan T细胞含量(CD3+CD45RA+CD45RO-CD197+)通常为 $96.1 \pm 2.3\%$ (平均值±标准差，使用紫色 EasySep™磁极)。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为 4.5% 和 97%。

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.的注册商标。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。所有商标和注册商标均为各自所有者所有。Brilliant Violet是Sirigen Group Ltd的商标。BD Horizon Brilliant是Becton, Dickinson, and Company的商标。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。