

# EasySep™ 人 TCR Alpha/Beta 去除试剂盒

可处理  $1 \times 10^9$  个细胞

产品号 #17847

负选

文档号 #1000029458 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

电话: 400 885 9050

E-MAIL: [INFO.CN@STEMCELL.COM](mailto:INFO.CN@STEMCELL.COM)

## 产品介绍

从白细胞单采术样本或敲除了 TCR $\alpha$   $\beta$  的细胞培养物中去除人T细胞受体 alpha/beta+ (TCR $\alpha$   $\beta$ +) 细胞。

- 操作简单、快捷
- 无需分离柱
- 分选得到的细胞不带标记

该试剂盒通过识别细胞表面标志物 TCR $\alpha$   $\beta$  + 的抗体来去除 TCR $\alpha$   $\beta$  + 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在新的试管中。分选后的细胞可立即用于下游应用，例如流式细胞术、培养或冻存。

## 包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ 人 TCR Alpha/Beta 去除抗体混合物	17847C	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	50103	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。

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

获得 TCR $\alpha$   $\beta$  基因敲除细胞群体的方法请参阅技术帖：人原代T细胞的基因组编辑 (文档号 27155)，可从 [www.stemcell.com](http://www.stemcell.com) 获取，或联系我们索取电子版。

### 扩增的 TCR $\alpha$ $\beta$ 基因敲除细胞

收获培养的细胞，并离心去除原培养基。将细胞以  $5 \times 10^7$  细胞/mL 的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

### 白细胞单采术样本

1. 将3份氯化铵溶液 (产品号 #07800) 添加到1份白细胞单采术样本中。
2. 冰上孵育15分钟。
3. 在室温 (15 - 25°C) 下以300 x g 离心10分钟。小心地去除上清液。
4. 使用推荐的缓冲液加满试管以清洗细胞。室温下，150 x g，离心10分钟 (关闭离心机刹车)。小心地去除上清液。
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) 或者含2% 胎牛血清 (FBS) 和1 mM EDTA的PBS。缓冲液应该不含Ca<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>。

## 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 TCR Alpha/Beta 去除试剂盒操作流程

		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 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.25 - 2 mL	5 x 10 <sup>7</sup> 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) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯圆底流式管 (如: 产品号 #38008)
2	在样本中加入去除抗体混合物。 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™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
4	将RapidSpheres™ 加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3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"> <li>● 若样本 ≤ 4 mL，定容至5 mL</li> <li>● 若样本 &gt; 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*，倾倒下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 TCR Alpha/Beta 去除试剂盒操作流程

		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 <sup>7</sup> 细胞/mL 5 - 40 mL
	将样本添加到所需的试管中。	50 mL (30 x 115 mm) 锥型管 (如: 产品号 #38010)
2	在样本中加入去除抗体混合物。 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10分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒
4	将RapidSpheres™ 加到样本中。	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5 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"> <li>若样本 ≤ 20 mL，定容至 25 mL</li> <li>若样本 &gt; 20 mL，定容至 50 mL</li> </ul>
	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）去除后的细胞悬液至一个新的试管。	使用新的50 mL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10分钟 总共进行2次10分钟的分选
8	小心地吸出（切勿倾倒）去除后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)

## 注意事项和提示

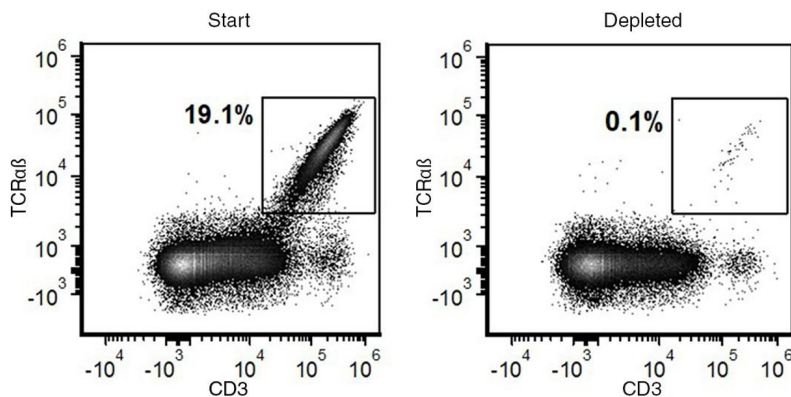
### 纯度评估

要通过流式细胞术评估TCRα β+细胞的残留，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人TCRα β抗体，克隆号IP26（部分阻断），或者
- 抗人TCRα β抗体，克隆号T10B9.1A31（部分阻断）

注意：使用ArciTect™ CRISPR/Cas9介导的基因编辑可以破坏人原代T细胞上内源性 TCRα β的表达。TCRα β敲除效率通常可达60 - 90%。若起始样本为扩增的TCRα β基因敲除细胞培养物，TCRα β的表达水平随TCRα β基因敲除效率的不同而变化。

## 实验数据



以上实验中，起始样本和去除后细胞中CD3+ TCRα β+细胞的比例分别为19.1%和0.1%。

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。有关STEMCELL质量的更多信息，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、ArciTect、EasySep和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。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。