

EasySep™人 CD8+ T 细胞分选试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #17953
#17953RF RoboSep™

负选

文档号 #1000029462 | 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, 在短至8分钟内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且高纯度的CD8+T细胞。

- 操作简单、快捷, 且无需分离柱
- 纯度高达91%, 回收率高
- 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CD8+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CD8+T细胞分选抗体混合物 | 17953C | 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。

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) 细胞离心管。

如果使用冻存的PBMC (例如: 人外周血单个核细胞, 冻存**, 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, 推荐用培养基或相应的缓冲液 (DMEM, IMDM, RPMI或含10%胎牛血清 [FBS] 的PBS) 清洗细胞至少2次, 再进行标记和分选。使用37 µm的细胞滤筛 (产品号 #27250) 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。

白细胞单采术样本

加入等体积的推荐缓冲液或含2%胎牛血清 (FBS) 的PBS, 在室温 (15 - 25°C) 下以300 x g离心10分钟, 清洗外周血白细胞单采术样本。如果需要裂解红细胞, 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, 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。

* 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有售。如需更多信息, 请通过 info.cn@stemcell.com 联系我们。

推荐缓冲液

EasySep™ 缓冲液 (产品号 #20144)、RoboSep™ 缓冲液 (产品号 #20104) 或含有2% FBS和1mM 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 CD8+ 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 0.25 - 2 mL | 5 x 10 ⁷ 细胞/mL 1 - 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 | 50 µL/mL样本 |
| 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 |
| | 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 CD8+ T 细胞分选试剂盒操作流程

| | | EASYSEP™磁极 | | | |
|----|---|--|--|---|--|
| 步骤 | 说明 |  EasyPlate™ (产品号 #18102) |  EasyEights™ (产品号# 18103) | |  Easy50 (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 0.1 - 0.2 mL | 5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 2 mL | 5 x 10 ⁷ 细胞/mL 1 - 8.5 mL | 5 x 10 ⁷ 细胞/mL 10 - 45 mL |
| | 将样本添加到所需的试管中(若使用EasyPlate™ EasySep™ 磁极，将样本加到96孔板中)。 | 圆底，非TC处理的96孔板 (如:产品号 #38018) | 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 | 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 | 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 | 30秒 |
| 4 | 将RapidSpheres™磁珠加到样本中混匀。 | 50 μL/mL 样本 | 50 μL/mL样本 | 50 μL/mL 样本 | 50 μL/mL 样本 |
| 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0.25 mL | 定容至2.5 mL | · 若样本 ≤4 mL，定容至5 mL · 若样本 >4 mL，定容至10mL | · 若样本 ≤20 mL，定容至25 mL · 若样本 >20 mL，定容至50 mL |
| | 将试管或孔板（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 | 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或96孔板 | 使用新的96孔板 | 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 | 将磁极中包含非目的细胞的试管或96孔板取出，然后将上一步的新的试管或96孔板（不加盖）放入磁极孵育，以进行第二次分选。 | 室温孵育5分钟 | 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或96孔板 | 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 | 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 CD8+ 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) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008) | |
| 2 | 选择实验程序。 | 人CD8+T细胞分选17953 | |
| 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。取出含有目的细胞的试管。 | 分选后的细胞可立即用于下游应用 | |

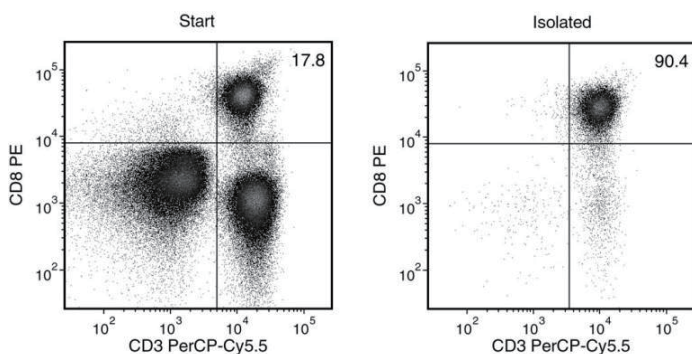
注意事项和提示

纯度评估

要通过流式细胞术评估CD8+T细胞 (CD3+CD8+) 的纯度，请使用以下荧光素偶联的流式抗体：

- 抗人CD3抗体，克隆UCHT1 (产品号 #60011)，以及
- 抗人CD8a抗体，克隆RPA-T8 (产品号 #60022)。

实验数据



起始样本为人PBMCs，分选后的CD8+T细胞 (CD3+CD8+) 含量通常为85.6±4.9% (平均值±标准差，使用紫色EasySep™磁极)。在以上实验中，起始样本和分选后的细胞的纯度分别为17.8%和90.4%。

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和其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasyEight、EasyPlate、EasySep、RapidSpheres、RoboSep、和SepMate均是 STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG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。