

# EasySep™人记忆 CD4+ T 细胞富集试剂盒

可处理  $1 \times 10^9$  个细胞

产品号 #19157

#19157 RoboSep™

负选

文档号 #10000029463 | 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

通过免疫磁珠负选，从新鲜或冻存的人外周血单个核细胞（PBMC）中分离出无磁珠标记和高纯度的记忆CD4+ T细胞（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记忆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	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™人记忆CD4+ T细胞富集抗体混合物	19157C	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。
EasySep™ D Magnetic Particles磁珠	19250	2 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

有关可用的新鲜和冻存样本，请参见 [www.stemcell.com/primarycells](http://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  $5 \times 10^7$  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）。

## 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<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™人记忆 CD4+ T 细胞富集试剂盒实验流程

		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) 聚苯乙烯流式管 (如: Corning 产品号 #352058)	14 mL (17 x 100 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: Corning 产品号 #352057)
2	在样本中加入富集抗体混合物。 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10分钟	室温孵育10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5分钟	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。	定容至2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 若样本 &lt; 2 mL, 定容至5 mL</li> <li>· 若样本 ≥ 2 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2.5分钟	室温孵育2.5分钟
6	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒入清液至一个新的试管中。	使用新的14 mL 管 分选后的细胞可立即用于下游应用	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 对于 &lt; 2 mL的起始样本，使用新的14 mL管</li> <li>· 对于 ≥ 2 mL的起始样本，使用新的50 mL管</li> </ul> 分选后的细胞可立即用于下游应用
可选: 额外分选步骤 注意: 可以提高回收率, 但可能会降低细胞纯度。		---	---
7	从磁极中取出试管，并加入推荐缓冲液定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸5 - 6次来混匀。	定容至2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 若样本 &lt; 2 mL, 定容至5 mL</li> <li>· 若样本 ≥ 2 mL, 定容至10 mL</li> </ul>
8	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育2.5分钟	室温孵育2.5分钟
9	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和流式管*，倾倒入富集的细胞悬液至一个新的流式管中。	与步骤6中倒出的细胞悬液合并 分选后的细胞可立即用于下游应用	与步骤6中倒出的细胞悬液合并 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™人记忆 CD4+ T 细胞富集试剂盒实验流程

		EASYSEP™ 磁极	
步骤	说明	 EasyPlate™ (产品号 #18102)	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 0.05 - 0.2 mL	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 1 - 40 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 Costar 产品号 #3788)	50mL 锥形管 (如 Corning 产品号 #352070)
2	在样本中加入富集抗体混合物。 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10分钟	室温孵育10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5分钟	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。	定容至0.25 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>· 若样本 ≤ 10 mL，定容至25 mL</li> <li>· 若样本 &gt; 10 mL，定容至50 mL</li> </ul>
	将试管或孔板（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
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。	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）

\*\*通过一次移液一次性收集全部的上清液（如：对于Easy 50 EasySep™磁极，使用25mL 的血清移液管收集较小体积的上清液，或使用50mL 的血清移液管收集较大体积的上清液）

## 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™人记忆 CD4+ T 细胞富集实验流程

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 0.5 - 8.5 mL	
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 100 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: Corning 产品号 #352057)	
2	选择实验程序。	人记忆CD4+T细胞负选19157 - 高回收率	
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	

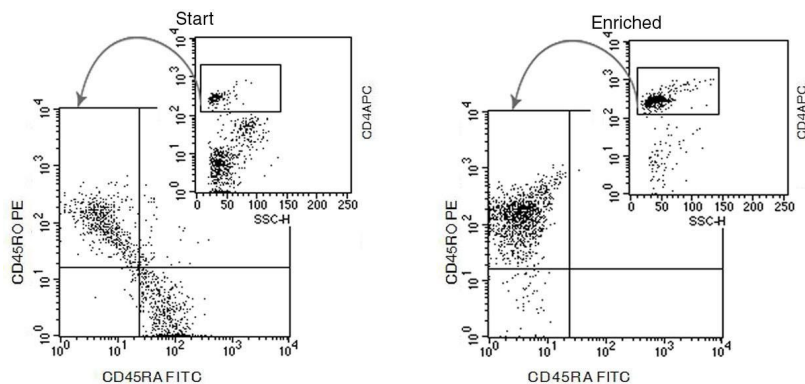
## 注意事项和提示

### 纯度评估

要通过流式细胞术评估记忆CD4+ T细胞 (CD4+CD45RA-CD45RO+) 的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD4抗体，克隆OKT4 (产品号 #60016)，以及
- 抗人CD45RO抗体，克隆UCHL1 (产品号 #60097)，以及
- 抗人CD45RA抗体

## 实验数据



起始样本为冻存的单个核细胞，富集后的记忆CD4+ T细胞 (CD4+CD45RA-CD45RO+) 含量通常可达86 - 98%。在上述实验中，起始样本和分选后的细胞纯度分别为8%和93%。

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 & Design、STEMCELL Shield Design、Scientists Helping Scientifics、EasySep、RoboSep 和 SepMate 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。