

EasySep™人 CD4+ T 细胞富集试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #19052
#19052RF

负选

文档号 #1000029474 | 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，从新鲜或冻存的人外周血单个核细胞（PBMCs）或裂解的白细胞单采样本中分离出无磁珠标记和高纯度的CD4+ T细胞。

- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- 纯度高达97%
- 获得不带标记的活细胞

该试剂盒通过识别特异性细胞表面标志物的抗体来去除非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下。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CD4+T细胞富集抗体混合物 | 19052C.2 | 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™ 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。

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 5×10^7 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）。

裂解的白细胞单采样本

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。在室温（15 - 25°C）下以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 5×10^7 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 CD4+ T 细胞富集试剂盒操作流程

| | | EASYSEP™ 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 - 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。 | 100 µL/mL 样本 | 100 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"> 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流式管*，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 CD4+ T 细胞富集试剂盒操作流程

| 步骤 | 说明 | EASYSEP™ 磁极 | | | |
|----|--|--|--|---|---|
| | |  EasyPlate™ (产品号 #18102) |  EasyEights™ (产品号 #18103) 5 mL 流式管 |  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 ⁷ 细胞/mL 0.05 - 0.2 mL | 5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.25 - 2 mL | 5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 8 mL | 5 x 10 ⁷ 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 | 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 | 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 | 30 秒 | 30 秒 |
| 4 | 将磁珠加入到样本中。 | 100 μL/mL 样本 | 100 μL/mL 样本 | 100 μL/mL 样本 | 100 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10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 | 定容至2.5 mL | · 若样本 < 2 mL, 定容至5 mL · 若样本 ≥ 2 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5分钟 | 室温孵育5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 | 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 #38009]）。

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 CD4+ T 细胞富集试剂盒操作流程

| 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CD4+ T细胞负选19052 | |
| 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 | |

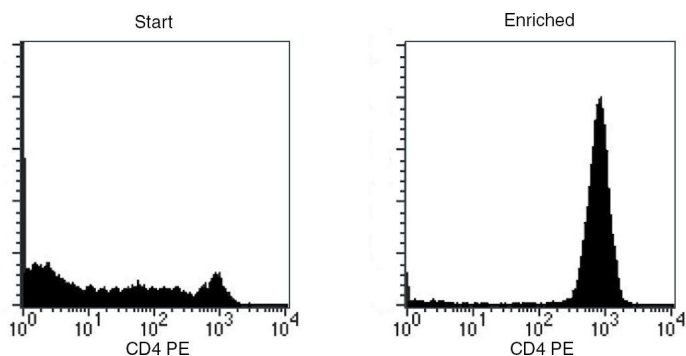
注意事项和提示

纯度评估

要通过流式细胞术评估CD4+ T细胞的纯度，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)

实验数据



起始样本为冻存的单个核细胞，富集的细胞中CD4+细胞的内容通常可达92 - 97%。在上述实验中，起始样本和富集后的目的细胞纯度分别为18%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、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。