

EasySep™非人灵长类 CD4+ T 细胞分选试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #19582

#19582RF RoboSep™

负选

文档号 #10000029479 | 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25分钟内从新鲜或冻存的非人灵长类外周血单个核细胞（PBMCs）中分离出高纯度的CD4+ T细胞。

- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- 纯度高达85%，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、细胞培养或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™非人灵长类CD4+ T细胞分选抗体混合物	19582C	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含0.09%叠氮化钠的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

该试剂盒已被验证可用于恒河猴和食蟹猴。

外周血

对于来自恒河猴的外周全血，通过在密度梯度离心液（如Lymphoprep™，产品号 #18060）上离心来制备PBMC悬液。对于来自食蟹猴的外周全血，使用D-PBS（不含Ca⁺⁺和Mg⁺⁺；产品号 #37350）将密度梯度离心液稀释至90%。

注：为了获得更高的细胞回收率，建议使用14 mL聚苯乙烯圆底试管（例如产品号 #38008）进行密度梯度离心，特别是对于较小体积的外周血。

对于从采集到处理超过24小时的血样，在细胞分选之前可能需要使用氯化铵溶液（产品号 #07800）裂解红细胞（RBCs）。

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。

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™ 非人灵长类 CD4+ 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 0.5 - 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
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
3	涡旋EasySep™ D Magnetic Particles。 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。 注：可通过将孵育时间增加至10分钟来提高细胞纯度；然而，这可能会降低细胞回收率。	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*，倾倒入清液至一个新的试管中。	使用新的5 mL 流式管	使用新的14 mL 流式管
7	将步骤6中的流式管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次细胞分选。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
8	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5 mL流式管， 分选后的细胞可直接用于下游应用	使用新的14 mL流式管， 分选后的细胞可直接用于下游应用

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。

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2. RoboSep™非人灵长类 CD4+ 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。	非人灵长类 CD4+ T细胞分选19582	
3	涡旋EasySep™ D Magnetic Particles。 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，卸下转盘上的样品。取出装有分离细胞的试管。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

注意事项和提示

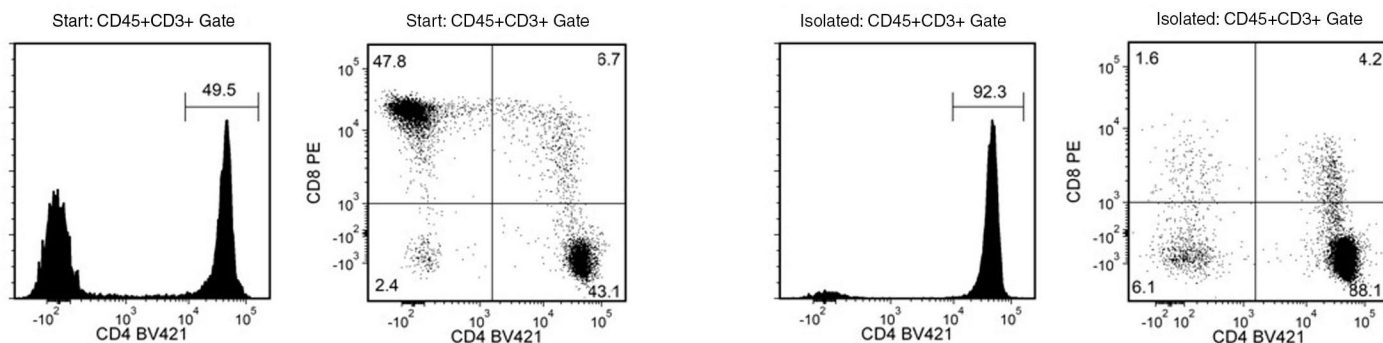
纯度评估

注：考虑到会存在红细胞残留，强烈建议使用CD45抗体。注：强烈建议使用细胞活性染料。

要通过流式细胞术评估非人灵长类CD4+ T细胞 (CD3+CD4+) 的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD3抗体，克隆SP34.2，
- 抗人CD4抗体，克隆OKT4 (产品号 #60016)，
- 抗人CD8抗体，克隆SK1 (产品号 #60022)，以及
- 抗人CD45抗体，克隆 D058-1283

实验数据



以上示例中，起始样本为恒河猴PBMCs，分选前和分选后的CD4+T细胞含量（以CD45+CD3+设门）分别为49.5%和92.3%。

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 & Design、STEMCELL Shield Design、Scientists Helping Scientifics、EasySep、RoboSep 和SepMate是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。所有商标为各自所有者所有。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。