

EasySep™ 人 CD3 正选试剂盒II

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #17851
#17851RF RoboSep™

正选

文档号 #1000032218 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

通过免疫磁珠正选, 在短至 15 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高度纯化的 CD3+ 细胞。

- 快速、简单
- 纯度高达99%
- 无需分离柱

该试剂盒使用识别CD3表面标志物的抗体来进行正选 CD3+ 细胞。目的细胞用抗体和磁珠标记, 并通过EasySep™ 磁极进行无柱分选。非目的细胞通过简单倾倒入弃去, 而目的细胞则保留在试管中。分选后的细胞可立即用于下游应用, 例如流式细胞术、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™ 人 CD3 正选抗体混合物II	17851C	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, 包含Fc受体阻断剂。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100	50100	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。为了更快地制备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。通过37 µm 的细胞滤筛 (产品号 #27250) 过滤细胞悬液去除聚团, 以获得最佳结果。

制备完成后, 将细胞以 1×10^8 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)。

白细胞单采术样本

通过添加等体积的推荐缓冲液或含有2%胎牛血清 (FBS) 的PBS来清洗外周血白细胞单采术样本。在室温下以 $300 \times g$ 离心10分钟。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 $120 \times g$ 离心10分钟。去除上清液, 并将细胞以 1×10^8 细胞/mL 的浓度重悬于推荐缓冲液中。

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 CD3 正选试剂盒 II 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。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.1 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 8 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	在样品中加入分选抗体混合物。 注意: 不要涡旋抗体混合物。	100 µL/mL样本	100 µL/mL样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3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。	60 µL/mL 样本	60 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
5	添加推荐缓冲液，将样品定容至指定体积。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3 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。 从磁极中取出试管，该试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液
7	重复以上步骤。	重复两次步骤5和6 (总共进行3次3分钟的分选)	重复两次步骤5和6 (总共进行3次3分钟的分选)
8	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从试管壁上收集细胞。	分离的细胞可立即用于下游应用	分离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 CD3 正选试剂盒II操作流程

步骤	说明	EASYSEP™ 磁极			
		EasyPlate™ (产品号 #18102)	EasyEights™ (产品号 #18103)		Easy 50 (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。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.05 - 0.2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 1 - 8 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 5 - 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，非组织培养处理的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) 锥型管 (如: 产品号 #38010)
2	在样品中加入分选抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。	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3分钟	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
3	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒	30 秒	30 秒
4	将RapidSpheres™ 加到样品中。	60 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3分钟	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
5	添加推荐缓冲液，将样品定容至指定体积。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 ≤ 3 mL，定容至5 mL · 若样本 > 3 mL，定容至10 mL	定容至： · 10 mL，若样本 ≤ 5 mL · 20 mL，若样本 > 5 - 10 mL · 30 mL，若样本 > 10 - 15 mL · 40 mL，若样本 > 15 - 20 mL · 50 mL，若样本 > 20 - 40 mL
	将试管（不加盖）或孔板放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育10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）并弃去上清液，将包含目的细胞的流式管或孔板从磁极上取下。	弃去上清液	弃去上清液	弃去上清液	弃去上清液
7	添加推荐的缓冲液，将样品定容至指定体积。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 ≤ 3 mL，定容至5 mL · 若样本 > 3 mL，定容至10 mL	定容至： · 10 mL，若样本 ≤ 5 mL · 20 mL，若样本 > 5 - 10 mL · 30 mL，若样本 > 10 - 15 mL · 40 mL，若样本 > 15 - 20 mL · 50 mL，若样本 > 20 - 40 mL
	将试管（不加盖）或孔板放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
8	小心地吸出**（切勿倾倒）并弃去上清液，将包含目的细胞的流式管或孔板从磁极上取下。	弃去上清液	弃去上清液	弃去上清液	弃去上清液
9	重复以上步骤。	步骤7和8 (总共进行3次5分钟的分选)	步骤7和8 (总共进行1次10分钟和2次5分钟的分选)	步骤7和8 (总共进行1次10分钟和2次5分钟的分选)	步骤7和8 (总共进行1次10分钟和2次5分钟的分选)
10	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从试管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用	分离的细胞可立即用于下游应用	分离的细胞可立即用于下游应用	分离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 CD3 正选试剂盒II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。	1 x 10 ⁸ 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 CD3 正选 II 17851	
3	涡旋振荡RapidSpheres™。 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“运行”按钮	
5	运行完成后，卸载转盘，取出装有目的细胞的试管，然后将细胞重悬于所需的培养基中。请确保从试管壁上收集细胞。	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

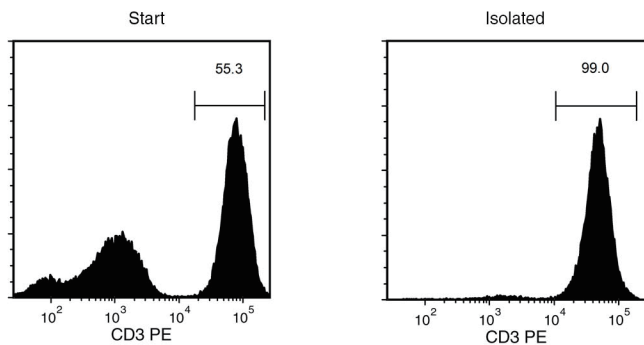
EasySep™人 CD3 正选抗体混合物使用抗CD3抗体克隆，据我们所知，该抗体克隆号完全或部分阻断所有用于通过流式细胞仪评估纯度的抗CD3抗体克隆号。要通过流式细胞术评估 CD3+ 细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD3抗体，克隆UCHT1（产品号 #60011；部分阻断）

还可以使用以下方法之一：

- 使用替代标志物，例如荧光染料偶联的抗人CD4抗体克隆号OKT4（产品号 #60016）和抗人CD8a抗体克隆号RPA-T8（产品号 #60022）。
- 使用荧光染料偶联的二抗，例如山羊抗小鼠IgG（H+L）多克隆抗体（产品号 #60138）。

实验数据



起始样本为人PBMCs的单细胞悬液，分选后的CD3+细胞含量通常为99.2 ± 0.2%（平均值 ± 标准差，使用紫色EasySep™ 磁极）。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为55.3%和99.0%。

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。以Lymphoprep品牌名称销售的产品也由Serumwerk Bernburg AG制造。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。