

EasySep™小鼠 Naïve CD4+ T 细胞分选试剂盒

可处理 1×10^9 个细胞

产品号 #19765

产品号 #19765RF RoboSep™

负选

文档号 #1000032226 | 版本01



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小鼠脾细胞中分离出无磁珠标记且高纯度的naïve CD4+ T细胞 (CD4+CD44^{low}CD62L^{high})。当使用其他类型组织来源的单细胞悬液时, 该试剂盒可能需要优化。

- 操作简单、快捷, 且无需分离柱
- 纯度高达95%
- 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naïve CD4+ T细胞。非目的细胞用生物素化抗体和磁珠标记, 并通过EasySep™磁极进行无柱分选。目的细胞被简单地倾倒入至一个新的试管中。分选后的细胞可立即用于下游应用, 例如流式细胞术、培养或基于细胞的检测分析。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™小鼠CD4+ T细胞分选抗体混合物	19852C.1	1 x 0.5 mL	2-8°C 储存。 勿冷冻	具体效期请见标签	保存在含0.1% BSA的PBS中的单克隆抗体混合物
EasySep™小鼠记忆T细胞去除抗体混合物	18766C	1 x 0.5 mL	2-8°C 储存。 勿冷冻	具体效期请见标签	保存在含0.1% BSA的PBS中的单克隆抗体混合物
EasySep™ Streptavidin RapidSpheres™ 50001磁珠	50001	1 x 1 mL	2-8°C 储存。 勿冷冻	具体效期请见标签	保存在PBS中的磁珠悬浮液
EasySep™小鼠FcR阻断剂	18720	1 x 0.1 mL	2-8°C 储存。 勿冷冻	具体效期请见标签	保存在含0.1% BSA和< 0.1% 叠氮化钠的PBS中的单克隆抗体混合物

BSA - 牛血清白蛋白; 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

脾脏

在含有2%胎牛血清 (FBS) 的PBS或Hanks平衡盐溶液 (HBSS) 中机械解离脾脏。使用70 µm细胞滤筛 (如产品号 #27260) 过滤细胞悬液, 以去除聚团和碎片。以300 x g离心10分钟, 然后使用推荐缓冲液以 1×10^8 有核细胞/mL的浓度重悬细胞。

制备用于分选的样本时, 不建议使用氯化铵处理样本。


推荐缓冲液

RoboSep™缓冲液 (产品号 #20104) 或含2% FBS的PBS。缓冲液应该不含Ca⁺⁺、Mg⁺⁺和生物素。

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™小鼠Naïve CD4+ T细胞分选试剂盒操作流程

		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。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.1 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 8 mL
	在样本中加入FcR阻断剂。	10 µL/mL 样本	10 µL/mL 样本
2	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 圆底聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 圆底聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
3	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7.5分钟	室温孵育7.5分钟
4	在样本中加入去除抗体混合物。 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2.5分钟	室温孵育2.5分钟
5	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
6	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	75 µL/mL 样本	75 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育2.5分钟	室温孵育2.5分钟
7	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2.5分钟	室温孵育2.5分钟
8	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒入富集的细胞悬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™小鼠Naïve CD4+ T细胞分选试剂盒操作流程

		EASYSEPT™ 磁极	
步骤	说明	EasyEights™ (产品号 #18103)	
		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 0.1 - 2 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.25 - 8 mL
	在样本中加入FcR阻断剂。	10 μL/mL 样本	10 μL/mL 样本
2	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 圆底聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 圆底聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
3	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7.5分钟	室温孵育7.5分钟
4	在样本中加入去除抗体混合物。 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2.5分钟	室温孵育2.5分钟
5	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
6	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	75 μL/mL 样本	75 μL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育2.5分钟	室温孵育2.5分钟
7	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。	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（例如，对于EasyEights™ 5 mL流式管，使用一个2 mL血清移液管 [产品号 #38002]；对于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™小鼠Naïve 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。	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 1 - 8 mL	
	在样本中加入FcR阻断剂。	10 µL/mL 样本	
2	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 圆底聚苯乙烯流式管 (如产品号 #38008)	
3	选择实验程序。	小鼠Naïve CD4+ T细胞分选19765v2 (19852_18766)	
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	
5	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	
6	运行完成后，卸载转盘。取出装有目的细胞的试管。	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

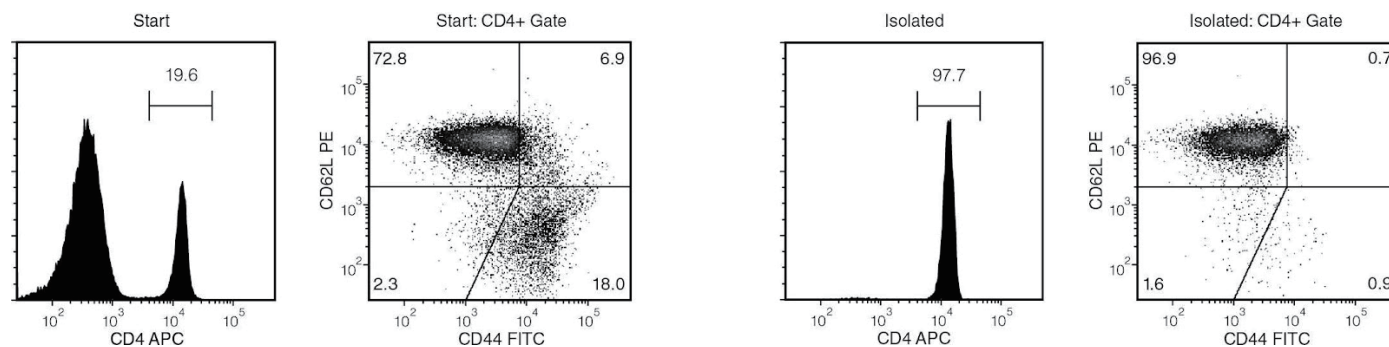
要通过流式细胞术评估naïve CD4+ T细胞 (CD4+CD44^{low}CD62L^{high}) 的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗小鼠CD4抗体，克隆RM4-5 (产品号 #60017)，以及
- 抗小鼠CD44抗体，克隆5035-41.1D，以及
- 抗小鼠CD62L (L-Selectin) 抗体，克隆MEL-14 (产品号 #60109)

EasySep™小鼠Naïve CD4+ T细胞分选抗体混合物中使用的CD44抗体克隆不会阻断抗小鼠CD44 (Ly-24)，克隆5035-41.1D。

5035-41.1D克隆仅识别Ly-24.2亚型，该亚型在C57BL/6、C57BL/10、C57/L、C58A、AKR、129、SJL、NZB、C3H、CE和CBA/H小鼠品系中表达。不建议使用抗小鼠/人CD44克隆IM7来评估纯度，因为该克隆会被 EasySep™小鼠Naïve CD4+ T细胞分选抗体混合物中使用的抗小鼠CD44抗体克隆阻断。

实验数据



起始样本为未感染小鼠的脾细胞，分选后的naïve CD4+ T细胞含量 (CD4+CD44^{low}CD62L^{high}) 通常为87.6 - 95.6%。

在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为14.3%和94.7%。

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、EasySep、RoboSep和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.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。