

# EasySep™人中央和效应记忆 CD4 + T 细胞分选试剂盒

可处理 1 x 10<sup>9</sup> 个细胞

产品号 #17865

正选

文档号 #1000035706 | 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, 从新鲜的外周血单个核细胞 (PBMCs) 或洗涤的白细胞单采术样本中分离高纯度的中央 (CD3+ CD4+ CD45RO+ CD62L+) 和效应 (CD3+ CD4+ CD45RO+ CD62L-) 记忆CD4 + T 细胞。

- 操作简单、快捷, 且无需分离柱
- 纯度高达96%
- 无需清洗即可去除EasySep™ Releasable RapidSpheres™可解离磁珠

首先, 通过使用抗体复合物和EasySep™ Releasable RapidSpheres™的无柱免疫磁珠正选来分选CD62L+细胞。接着, 结合在使用EasySep™分离的CD62L+细胞上的磁珠被解离, 并通过抗体复合物和EasySep™ Dextran RapidSpheres™去除CD45RA+和非CD4+ T细胞。使用抗体复合物和EasySep™ Dextran RapidSpheres™从CD62L-细胞中分离效应记忆CD4+ T细胞。使用该EasySep™ Release试剂盒分选之后, 细胞表面仍结合有抗体复合物, 并可能与Brilliant Violet™偶联的抗体、聚乙二醇修饰的蛋白质或其他化学相关配体相互作用。

## 包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ Release人CD62L正选抗体混合物	17756C	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含0.1% BSA的PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™人记忆CD4+ T细胞分选抗体混合物	17865C	1 x 0.5 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™人CD25去除抗体混合物	17862C	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™ Releasable RapidSpheres™50201磁珠	50201	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。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™50102磁珠	50102	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。
EasySep™ Release缓冲液	20145	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签。	用于正选后从细胞上解离Releasable RapidSpheres™磁珠的缓冲液。

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

### 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。制备完成后, 将细胞以1 x 10<sup>8</sup>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 (15 - 25°C) 下以500 x g离心10分钟。如果分离效应记忆CD4 + T细胞, 请用氯化铵溶液 (产品号 #07800) 裂解红细胞 (RBCs)。如果需要去除血小板, 请关闭离心机刹车, 以120 x g离心10分钟。去除上清液, 并将细胞以1 x 10<sup>8</sup> 细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

注: CD62L表达可能会因抗原脱落而丢失。为了达到最佳使用效果, 请使用24小时内收集的样本。请勿使用冻存样本。


## 推荐缓冲液

EasySep™缓冲液 (产品号 #20144) 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™人中央记忆 CD4 + T 细胞分选操作流程

		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 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.5 - 2 mL	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 1 - 8 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CD62L正选抗体混合物。 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5分钟	室温孵育5分钟
3	涡旋Releasable RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
4	将Releasable RapidSpheres™磁珠加到样本中。	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
5	添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 &lt; 1 mL，定容至 1.25 mL</li> <li>●若样本 ≥ 1 mL，定容至 2.5 mL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 &lt; 2 mL，定容至 2.5 mL</li> <li>●若样本 ≥ 2 - 4 mL，定容至5 mL</li> <li>●若样本 &gt; 4 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。从磁极中取出试管；试管中含有分选后的细胞。	如果需要，可保留上清液用于分离效应记忆CD4+ T细胞（表3）	如果需要，可保留上清液用于分离效应记忆CD4+ T细胞（表3）
7	添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 &lt; 1 mL，定容至 1.25 mL</li> <li>●若样本 ≥ 1 mL，定容至 2.5 mL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 &lt; 2 mL，定容至 2.5 mL</li> <li>●若样本 ≥ 2 - 4 mL，定容至5 mL</li> <li>●若样本 &gt; 4 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。从磁极中取出试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液
继续步骤9，下一页		继续步骤9，下一页	继续步骤9，下一页

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。不要摇晃或者擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

		EASYSEPTM磁极	
步骤	说明 (续)	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
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3次5分钟的分选)
10	添加推荐缓冲液, 将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。 请确保从管壁上收集细胞。	起始样本体积的一半§ (即: 步骤1中体积的一半)	起始样本体积的一半§ (即: 步骤1中体积的一半)
11	在样本中加入Release缓冲液并混匀。	100 µL/mL 重悬的样本 不进行孵育, 立即进行下一步骤	100 µL/mL 重悬的样本 不进行孵育, 立即进行下一步骤
12	将记忆CD4+ T细胞分选抗体混合物添加到样本中。	50 µL/mL重悬的样本	50 µL/mL重悬的样本
	可选: 将CD25去除抗体混合物添加到样本中。 注: 此抗体混合物可以根据需要进行滴定。 请见“注意事项和提示”。	10 µL/mL 重悬的样本	10 µL/mL 重悬的样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
13	涡旋Dextran RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
	将Dextran RapidSpheres™磁珠加到样本中混匀。	20 µL/mL 重悬的样本 不进行孵育, 立即进行下一步骤	20 µL/mL 重悬的样本 不进行孵育, 立即进行下一步骤
14	添加推荐缓冲液, 将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 &lt; 1 mL, 定容至 1.25 mL</li> <li>●若样本 ≥ 1 mL, 定容至 2.5 mL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 &lt; 2 mL, 定容至 2.5 mL</li> <li>●若样本 ≥ 2 - 4 mL, 定容至5 mL</li> <li>●若样本 &gt; 4 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5分钟	室温孵育5分钟
15	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。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管
16	从磁极中取出试管。将新的试管 (不加盖) 放入磁极 中并孵育以进行第二次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
17	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。不要摇晃或者擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

§ 后续步骤中试剂的添加量取决于重悬后的样本体积。

表2.EasySep™人中央记忆 CD4 + T 细胞分选操作流程

步骤	说明	EASYSEPTM磁极			
		EasyEightsTM (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 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.5 - 2 mL	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 1 - 8 mL	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 10 - 40 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 (例如产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (例如产品号 #38008)	50 mL (30 x 115 mm) 锥形管 (如: 产品号 #38010)	
2	在样本中加入CD62L正选抗体混合物。	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	
3	涡旋Releasable RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒	30 秒	
4	将Releasable RapidSpheres™磁珠加到样本中。	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	
5	添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	<ul style="list-style-type: none"> <li>若样本 &lt; 1 mL，定容至 1.25 mL</li> <li>若样本 ≥ 1 mL，定容至 2.5 mL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>若样本 &lt; 2 mL，定容至 2.5 mL</li> <li>若样本 ≥ 2 - 4 mL，定容至 5 mL</li> <li>若样本 &gt; 4 mL，定容至 10 mL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>若样本 ≤ 20 mL，定容至 25 mL</li> <li>若样本 &gt; 20 mL，定容至 50 mL</li> </ul>	
	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	室温孵育10分钟	
6	小心地吸取**（切勿倾倒）上清液。	如果需要，可保留上清液用于 分离效应记忆CD4 + T细胞（表4）	如果需要，可保留上清液用于 分离效应记忆CD4 + T细胞（表4）	如果需要，可保留上清液用于 分离效应记忆CD4 + T细胞（表4）	
7	从磁极中取出试管，并使用推荐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。	<ul style="list-style-type: none"> <li>若样本 &lt; 1 mL，定容至 1.25 mL</li> <li>若样本 ≥ 1 mL，定容至 2.5 mL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>若样本 &lt; 2 mL，定容至 2.5 mL</li> <li>若样本 ≥ 2 - 4 mL，定容至 5 mL</li> <li>若样本 &gt; 4 mL，定容至 10 mL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>若样本 ≤ 20 mL，定容至 25 mL</li> <li>若样本 &gt; 20 mL，定容至 50 mL</li> </ul>	
	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	室温孵育10分钟	
8	小心地吸取**（切勿倾倒）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10分钟的分选)	步骤7和8 (总共进行3次10分钟的分选)	步骤7和8 (总共进行3次10分钟的分选)	
继续步骤10，下一页		继续步骤10，下一页	继续步骤10，下一页	继续步骤10，下一页	

RT - 室温 (15 - 25°C)



\*\* 使用一个移液管一次收集所有的上清液（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]）。

		EASYSEPT™磁极		
步骤	说明 (续)	EasyEights™ (产品号 #18103)		Easy 50 (产品号 #18002)
		5 mL 流式管	14 mL 流式管	
10	从磁极中取出试管，并使用推荐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。请确保从管壁上收集细胞。	起始样本体积的一半§ (即：步骤1中体积的一半)	起始样本体积的一半§ (即：步骤1中体积的一半)	起始样本体积的一半§ (即：步骤1中体积的一半)
11	在样本中加入Release缓冲液并混匀。	100 µL/mL重悬的样本 无需孵育，立即进行下一步	100 µL/mL重悬的样本 无需孵育，立即进行下一步	100 µL/mL重悬的样本 无需孵育，立即进行下一步
12	将记忆CD4+ T细胞分选抗体混合物添加到样本中。	50 µL/mL重悬的样本	50 µL/mL重悬的样本	50 µL/mL重悬的样本
	可选：将CD25去除抗体混合物添加到样本中。 注：此抗体混合物可以根据需要进行滴定。 请见“注意事项和提示”。	10 µL/mL 重悬的样本	10 µL/mL 重悬的样本	10 µL/mL 重悬的样本
	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
13	涡旋Dextran RapidSpheres™。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒	30 秒
	将Dextran RapidSpheres™磁珠加到样本中混匀。	40 µL/mL 重悬的样本 不进行孵育，立即进行下一步骤	40 µL/mL 重悬的样本 不进行孵育，立即进行下一步骤	40 µL/mL 重悬的样本 不进行孵育，立即进行下一步骤
14	添加推荐缓冲液，将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 &lt; 1 mL，定容至 1.25 mL</li> <li>●若样本 ≥ 1 mL，定容至 2.5 mL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 &lt; 2 mL，定容至 2.5 mL</li> <li>●若样本 ≥ 2 - 4 mL，定容至5 mL</li> <li>●若样本 &gt; 4 mL，定容至10 mL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 ≤ 20 mL，定容至 25 mL</li> <li>●若样本 &gt; 20 mL，定容至 50 mL</li> </ul>
	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	室温孵育10分钟
15	小心地吸取**（切勿倾倒）上清液。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管	使用新的50 mL锥形管
16	从磁极中取出试管。将新的试管（不加盖）放入磁极中并孵育以进行第二次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育10分钟
17	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	分选后的细胞可立即用于下游应用

\*\* 使用一个移液管一次收集所有的上清液（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]）。

§ 后续步骤中试剂的添加量取决于重悬后的样本体积。

表3.人效应记忆 CD4 + T 细胞富集操作流程

		EASYSEPTM磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
1	确保细胞在所需的试管中。	表1第6步中的上清液必须置于5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯流式管中 (例如产品号 #38007)	表1第6步中的上清液必须置于14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管中 (例如产品号 #38008)
	离心细胞并使用推荐的缓冲液重悬至指定体积。通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	弃去上清液 起始样本体积的一半§ (即: 表1步骤1中体积的一半)	弃去上清液 起始样本体积的一半§ (即: 表1步骤1中体积的一半)
2	将记忆CD4+ T细胞分选抗体混合物添加到样本中。	50 µL/mL重悬的样本	50 µL/mL重悬的样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
3	涡旋Dextran RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
	将Dextran RapidSpheres™磁珠加到样本中混匀。	20 µL/mL 重悬的样本 不进行孵育, 立即进行下一步骤	20 µL/mL 重悬的样本 不进行孵育, 立即进行下一步骤
4	添加推荐缓冲液, 将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	<ul style="list-style-type: none"> <li>•若样本 &lt; 1 mL, 定容至 1.25 mL</li> <li>•若样本 ≥ 1 mL, 定容至 2.5 mL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•若样本 &lt; 2 mL, 定容至 2.5 mL</li> <li>•若样本 ≥ 2 - 4 mL, 定容至5 mL</li> <li>•若样本 &gt; 4 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5分钟	室温孵育5分钟
5	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。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管
6	从磁极中取出试管。将新的试管 (不加盖) 放入磁极中并孵育以进行第二次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
7	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

\* 保持磁极和流式管倒置 2 - 3秒, 然后翻转回直立位置。不要摇晃或者擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

§ 后续步骤中试剂的添加量取决于重悬后的样本体积。

表4.人效应记忆 CD4 + T 细胞富集操作流程

		EASYSEPT™磁极		
步骤	说明	EasyEights™ (产品号 #18103)		Easy 50 (产品号 #18002)
		5 mL 流式管	14 mL 流式管	
1	确保细胞在所需的试管中。	表2第6步中的上清液必须置于5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯流式管中 (例如产品号 #38007)	表2第6步中的上清液必须置于14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管中 (例如产品号 #38008)	表2第6步中的上清液必须置于50 mL (30 x 115 mm) 锥形管中 (例如产品号 #38010)
	离心细胞并使用推荐的缓冲液重悬至指定体积。通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	弃去上清液 起始样本体积的一半§ (即: 表2步骤1中体积的一半)	弃去上清液 起始样本体积的一半§ (即: 表2步骤1中体积的一半)	弃去上清液 起始样本体积的一半§ (即: 表2步骤1中体积的一半)
2	将记忆CD4+ T细胞分选抗体混合物添加到样本中。	50 µL/mL重悬的样本	50 µL/mL重悬的样本	50 µL/mL重悬的样本
	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
3	涡旋Dextran RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒	30 秒
	将Dextran RapidSpheres™磁珠加到样本中混匀。	40 µL/mL 重悬的样本 不进行孵育, 立即进行下一步骤	40 µL/mL 重悬的样本 不进行孵育, 立即进行下一步骤	40 µL/mL 重悬的样本 不进行孵育, 立即进行下一步骤
4	添加推荐缓冲液, 将样本定容至指定体积。 通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 &lt; 1 mL, 定容至 1.25 mL</li> <li>●若样本 ≥ 1 mL, 定容至 2.5 mL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 &lt; 2 mL, 定容至 2.5 mL</li> <li>●若样本 ≥ 2 - 4 mL, 定容至5 mL</li> <li>●若样本 &gt; 4 mL, 定容至10 mL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●若样本 ≤ 20 mL, 定容至 25 mL</li> <li>●若样本 &gt; 20 mL, 定容至 50 mL</li> </ul>
	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	室温孵育10分钟
5	小心地吸取** (切勿倾倒) 上清液。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管	使用新的50 mL锥形管
6	从磁极中取出试管。将新的试管 (不加盖) 放入磁极中并孵育以进行第二次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育10分钟
7	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	分选后的细胞可立即用于下游应用

\*\* 使用一个移液管一次收集所有的上清液 (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])。

§ 后续步骤中试剂的添加量取决于重悬后的样本体积。

## 注意事项和提示

### 纯度分析

要通过流式细胞术评估中央记忆 (CD3+ CD4+ CD45RO+ CD62L+) 或效应记忆 (CD3+ CD4+ CD45RO+ CD62L-) CD4+ T细胞的纯度, 请使用以下荧光偶联的抗体克隆:

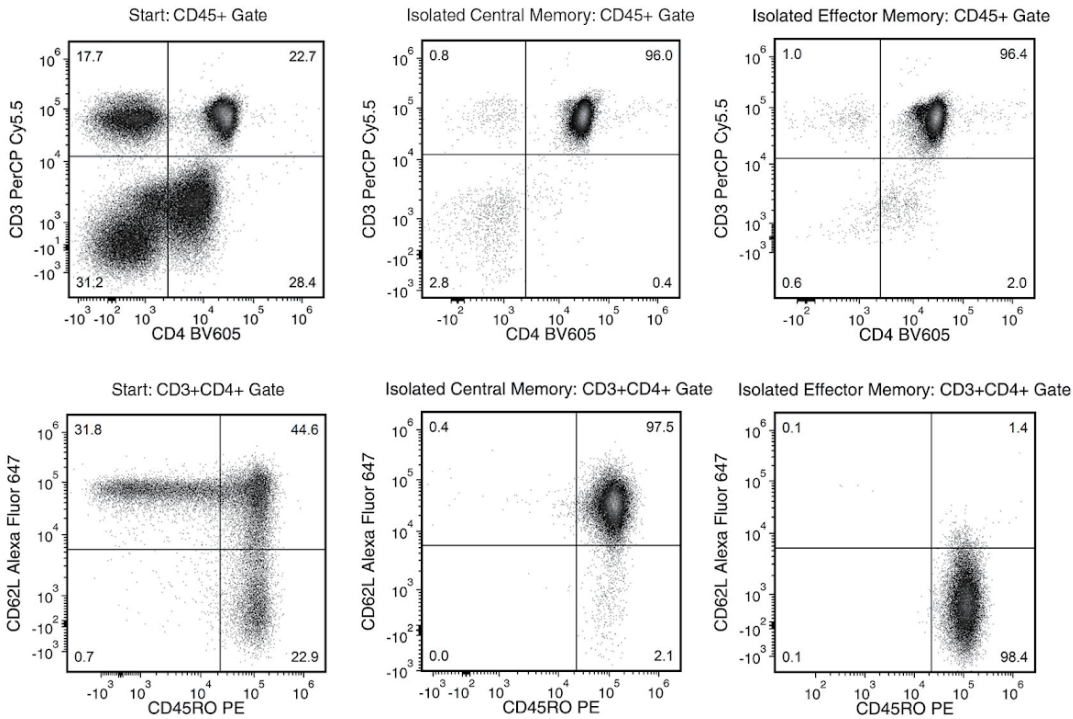
- 抗人CD3抗体, 克隆SK7 (产品号 #60127), 以及
- 抗人CD4抗体, 克隆RPA-T4, 以及
- 抗人CD45抗体, 克隆HI30 (产品号 #60018), 以及
- 抗人CD45RA抗体, 克隆F8-11-13 (可选), 以及
- 抗人CD45RO抗体, 克隆UCHL1 (产品号 #60097), 以及
- 抗人CD62L抗体, 克隆DREG56 (部分阻断)

注意: 在使用Brilliant Violet™偶联抗体进行流式细胞仪或荧光显微镜分析之前, 需要在EasySep™ Release分选的细胞上仔细滴定Brilliant Violet™偶联抗体。使用Brilliant Violet™偶联抗体进行纯度评估时, 建议使用BD Horizon Brilliant™ 染色缓冲液以减少非特异性相互作用。如需了解更多信息, 请参阅生产厂商的说明或通过info.cn@stemcell.com与我们联系。

### CD25去除

推荐添加10 μL/mL的EasySep™人CD25去除抗体混合物以去除CD25high细胞群。如需分离静息中央记忆CD4 + T细胞, 滴定至50 μL/mL以去除 CD25high和CD25mid细胞群。这可能会降低回收率。

## 实验数据



起始样本为新鲜PBMCs, 分选后的中央记忆CD4 + T细胞含量 (CD3+ CD4+ CD45RO+ CD62L+) 通常为 $92.3 \pm 3.9\%$  (使用紫色EasySep™磁极, 平均值  $\pm$  标准差)。分选后的效应记忆细胞含量(CD3+ CD4+ CD45RO+ CD62L-) 通常为 $92.4 \pm 4.1\%$  (平均值  $\pm$  标准差)。

注意: 流式分析前起始样本中的红细胞经过裂解去除。

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及其设计及徽标, 以及Scientists Helping Scientists、EasyEight、EasySep、RapidSpheres和SepMate均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。Brilliant Violet是Sriogen Group Ltd的商标。BD Horizon Brilliant是Becton, Dickinson, and Company的商标。Alexa Fluor是Life Technologies Corporation的商标。其它商标为各自持有人的产权。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。