

EasySep™ HLA 嵌合全血 CD4 正选试剂盒

可处理 60 mL 白膜层 (buffy coat) 或全血

产品号 #17888

产品号 #17888RF RoboSep™

正选

文档号 #1000035736 | 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人全血或白膜层 (buffy coat) 中分离高纯度的CD4+细胞。

- 操作简单、快速
- 纯度高达 99%
- 无需分离柱

该试剂盒使用识别CD4表面标志物的抗体来正选CD4+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提取以用于谱系特异性嵌合分析。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ HLA嵌合全血CD4正选抗体混合物	17888C	3 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签	保存在含10% HPCD的PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50100	50100	3 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™ RBC裂解缓冲液，10X 浓缩液	20110	1 x 10 mL	15 - 25°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签	10X浓缩的红细胞裂解试剂。

HPCD - 2 - 羟丙基环糊精； 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。

其它试剂稳定性信息

试剂名称	储存方式	效期
EasySep™ RBC裂解缓冲液 (1X稀释液)	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	可稳定存放不超过 3 个月。存放时间请勿超过原始组分标签上的效期 (EXP)。

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

使用装有抗凝剂的采血管采集全血。

白膜层 (buffy coat)

1. 在全血样本中加入等体积的推荐缓冲液。
2. 在室温下 (15 - 25°C)，以 800 x g 离心 10 分钟 (关闭离心机刹车)。
3. 吸取浓缩的白细胞层 (即白膜层)，以及一小部分血浆和浓缩的红细胞 (RBC)。其目的是将白细胞浓缩大约5倍，同时保持血细胞比容不变 (例如，当起始样本为 10 mL 全血时，收集 2 mL 的白膜层)。
4. 将最多 4.5 mL 的白膜层转移到所需的试管中 (参见表 1 - 3)。

白细胞去除术样本

如果处理白细胞去除术 (LRSC) 样本，请查阅适用的PIS (文档号 #1000006420)。

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 EasySep™ 的详细使用说明，请参阅表 1 和表 2。

表 1. EasySep™ HLA 嵌合全血 CD4 正选试剂盒操作流程

		EASYSEP™ 磁极
步骤	说明	“The Big Easy” (产品号 #18001) 
1	制备样本，样本体积在范围内。	1 - 4.5 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	向样本中添加 1X EasySep™ RBC 裂解缓冲液。	与样本等体积
3	在样本中加入分选抗体混合物。	25 µL/mL 稀释的样本
	混匀并孵育。	室温孵育 3 分钟
4	涡旋振荡 RapidSpheres™。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒
5	将 RapidSpheres™ 加到样本中。	25 µL/mL 稀释后的样本
	混匀并孵育。	室温孵育 3 分钟
6	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"> ●若稀释后的样本 ≤ 4 mL，定容至 5 mL ●若稀释后的样本 > 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 3 分钟
7	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒入上清液。 从磁极中取出试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液
8	重复以上步骤。	重复两次步骤 6 和 7 (总共进行 3 次 3 分钟的分选)
9	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

* 保持磁极和试管倒置 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™ HLA 嵌合全血 CD4 正选试剂盒操作流程

		EASYSEP™ 磁极
步骤	说明	 EasyEight™ (产品号 #18103) 14 mL 流式管
1	制备样本，样本体积在范围内。	1 - 4.5 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	向样本中添加 1X EasySep™ RBC裂解缓冲液。	与样本等体积
3	在样本中加入分选抗体混合物。	25 µL/mL 稀释后的样本
	混匀并孵育。	室温孵育 3 分钟
4	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒
5	将RapidSpheres™ 加到样本中。	25 µL/mL 稀释后的样本
	混匀并孵育。	室温孵育 3 分钟
6	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"> ●若稀释后的样本体积 ≤ 4 mL，定容至 5 mL ●若稀释后的样本体积 > 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
7	小心地吸取**（切勿倾倒）上清液。从磁极中取出试管； 试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液
8	重复以上步骤。	步骤 6 和 7 (总共进行 2 次 10 分钟的分选)
9	将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

** 使用单个移液管一次性收集全部上清液（例如，对于EasyEight™ 14 mL 试管，使用 10 mL 血清移液管）。

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™ HLA 嵌合全血 CD4 正选试剂盒操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)
1	制备样本，样本体积在范围内。	1 - 4.5 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	向样本中添加 1X EasySep™ RBC 裂解缓冲液。	与样本等体积
3	选择实验程序。 注: 输入体积。	HLA嵌合CD4 WB正选 17888 注: 输入稀释后的样本体积。
4	涡旋振荡RapidSpheres™。 注: 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，然后将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用

注意事项和提示

EasySep™ RBC 裂解缓冲液

该试剂盒中的EasySep™ RBC裂解液为 10 倍浓缩液。在使用前至少 1 小时，将 1 份10X 裂解液加入 9 份蒸馏水或 I 类水*中制备1X 裂解液。

使用前需轻柔且充分地混匀。

* I 类水是指适用于分析流程的超纯水。美国材料与试验协会 (ASTM) 将其定义为电阻率 > 18 MΩ-cm、电导率 < 0.056 μS/cm以及总有机碳 (TOC) < 50 ppb。

纯度评估

EasySep™ HLA嵌合全血CD4 正选抗体混合物使用的抗CD4抗体克隆会阻断克隆号为RFT4、SK3、SK4、RPA.T4和 13B8.2的抗CD4抗体。要通过流式细胞术评估细胞纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD4 抗体，克隆L120，以及
- 抗人CD14 抗体，克隆M5E2 (产品号 #60004; 可选)，或
- 抗人CD14 抗体，克隆MoP9 (产品号 #60124; 可选)

还可以使用以下方法之一：

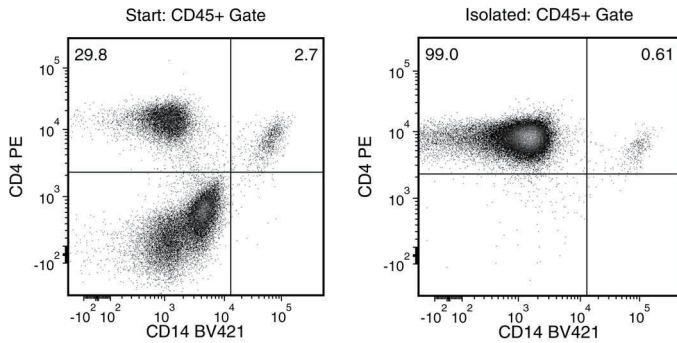
- 使用替代标志物，如荧光抗人CD3 抗体，克隆UCHT1 (产品号 #60011) 和抗人CD8a抗体，克隆RPA - T8 (产品号 #60022) 来检测CD3+CD8-细胞。
- 使用荧光二抗，例如山羊抗小鼠IgG (H+L) 多克隆抗体 (产品号 #60138)。

供体差异性

某些供体表达一种或多种可使磁珠交联的可溶性血清因子。这可能会导致正选后的细胞中出现可见的聚团。在对富集后的组分进行流式细胞术分析时，这些聚团可能在FSC vs. SSC图上显示为明显的高侧向角散射 (SSC) 群。可使用抗dextran、CD41和CD45的荧光偶联抗体染色来确定该群体仅含磁珠，不包含细胞或血小板。通过清洗去除供体的血浆可以避免可能的聚团。使用推荐缓冲液将样本稀释 2 倍，并以 300 x g 离心 10 分钟。在不扰动白细胞和红细胞的情况下尽可能地去除血浆，然后在开始分选流程之前用推荐缓冲液将样本重悬至原始体积。

如果样本未经清洗，可在对富集组分进行流式细胞术分析圈门时，根据聚团的FSC vs. SSC特征或CD45 表达的缺失来将其排除在外。

实验数据



起始样本为人全血，分选后的CD4+CD14-细胞含量通常为 $97.0 \pm 1.8\%$ （以CD45+设门；使用“The Big Easy” EasySep™ 磁极，平均值 \pm 标准差）。在上述实验中，起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为 29.8% 和 99.0%。

注意：流式分析前起始样本中的红细胞已通过氯化铵裂解去除。

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。

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、EasyEights、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。