

EasySep™ HLA 嵌合 CD8 正选试剂盒

可处理 60 mL 全血或白膜层 (buffy coat)

产品号 #17889

产品号 #17889RF RoboSep™

正选

文档号 #10000035737 | 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CD8+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CD8表面标志物的抗体来正选CD8+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CD8正选抗体混合物 | 17889C | 3 x 1 mL | 2 - 8°C 储存，勿冷冻。 | 具体效期请见标签 | 保存在含 2% HPCD 和 0.09% rHA PBS 中的单克隆抗体混合物，包含Fc受体阻断抗体。 |
| EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50101 | 50101 | 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。 | 具体效期请见标签 | 10X浓缩的红细胞裂解试剂。 |

HPCD - 2-羟丙基-β-环糊精；PBS - 磷酸盐缓冲液；rHA - 重组人白蛋白
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

如需处理白细胞去除术 (LRSC) 样本，请查阅适用的PIS (文档号 #10000006421)

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 CD8 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。 注意：不要涡旋抗体混合物。 | 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 ≤ 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 CD8 正选试剂盒操作流程

| | | EASYSEPTM 磁极 |
|----|---|--|
| 步骤 | 说明 |  EasyEight™ (产品号 #18103) 14 mL 流式管 |
| | | 1 - 4.5 mL |
| 1 | 制备样本，样本体积在范围内。 | 14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008) |
| | 将样本添加到所需的试管中。 | 与样本等体积 |
| 2 | 向样本中添加1X EasySep™ RBC裂解缓冲液。 | 25 µL/mL 稀释后的样本 |
| 3 | 在样本中加入分选抗体混合物。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。 | 室温孵育 3 分钟 |
| | 混匀并孵育 | 30 秒 |
| 4 | 涡旋振荡RapidSpheres™。 注意：磁珠应呈均匀分散状态 | 25 µL/mL 稀释后的样本 |
| 5 | 将RapidSpheres™ 加到样本中。 | 室温孵育 3 分钟 |
| | 混匀并孵育。 | <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 |
| 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。 | 室温孵育 10 分钟 |
| | 将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。 | 弃去上清液 |
| 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。 | <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 |
| 8 | 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。 | 室温孵育 5 分钟 |
| | 将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。 | 弃去上清液 |
| 9 | 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。 | 步骤 8 和 9 (总共进行 1 次 10 分钟和 2 次 5 分钟的分选) |
| 10 | 重复以上步骤。 | 分选后的细胞可立即用于下游应用 |
| 11 | 将细胞重悬于所需培养基中。请确保从管壁上收集细胞。 | |

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 CD8 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CD8 WB正选 17889 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

要通过流式细胞术评估CD8+细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD8a抗体，克隆RPA - T8 (产品号 #60022)，HIT8a, B9.11或
- 抗人CD8a抗体，克隆SK1 (产品号 #60125) 或LT8 (部分阻断)

也可以使用以下方法之一：

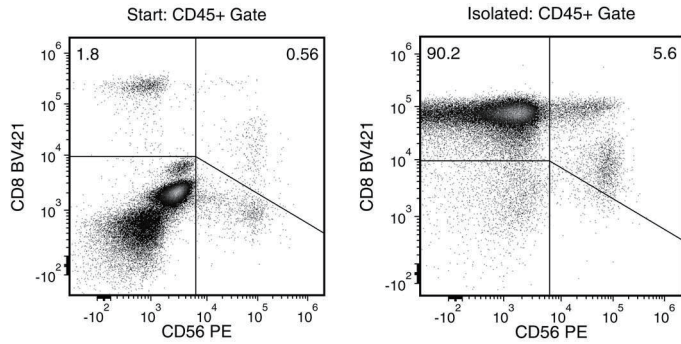
- 使用替代标志物，如荧光抗人CD3 抗体，克隆UCHT1 (产品号 #60011) 和抗人CD4 抗体，克隆OKT4 (产品号 #60016) 来检测CD3+CD4-细胞。
- 使用荧光二抗，例如山羊抗小鼠IgG (H+L) 多克隆抗体 (产品号 #60138)。

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，分选后的总CD8+细胞含量通常为 $98.7 \pm 1.1\%$ （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 2.4% 和 95.8%。

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。