

EasySep™小鼠 CD4 正选试剂盒II

可处理 2×10^9 个细胞

产品号 #18952

产品号 #18952RF RoboSep™

正选

文档号 #1000035747 | 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小鼠脾细胞或其它单细胞悬液中分离高纯度的CD4+细胞。

- 操作简单、快速、无需分离柱
- 纯度高达 98%
- 分选后的细胞无荧光标记

该试剂盒通过识别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、培养以及基于细胞的实验。

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正选试剂盒II 组分A	18952CA	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CD4正选试剂盒II 组分B	18952CB	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™ Dextran RapidSpheres™ 50100 磁珠	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。
小鼠FcR PolyBlock	300-0902	1 x 1.2 mL	2 - 8°C 储存, 勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在含有5 µg/mL Triton X - 100的水中的多克隆抗体和麦芽糖混合物。
RoboSep™ 空管	27401	1	不适用。	不适用。	不适用。

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, 但应按照下方说明进行储存。

其它试剂稳定性信息

试剂名称	储存方式	效期
分选抗体混合物 (组分A + 组分B的混合物)	2 - 8°C 储存。勿冷冻。	可存放不超过 4 周。存放时间请勿超过各个组分标签上的效期。

样本制备

脾脏

在含有2%胎牛血清 (FBS) 的PBS或Hanks平衡盐溶液中机械解离脾脏。使用70 µm 细胞滤筛 (如产品号 #27216) 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

EasySep™ 缓冲液 (产品号 #20144)、RoboSep™ 缓冲液 (产品号 #20104) 或含有2% 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。有关每种磁极的详细使用方法，请参阅表1和表2。

表1. EasySep™小鼠 CD4 正选试剂盒II的操作流程

		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 0.25 - 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	将小鼠FcR PolyBlock加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
3	在试管中制备分选抗体混合物。对于每1 mL样本，需制备50 µL抗体混合物 (25 µL组分A + 25 µL组分B)。	将等体积的组分A和组分B混合。 分选抗体混合物可在2 - 8°C下稳定存放不超过4周。	将等体积的组分A和组分B混合。 分选抗体混合物可在2 - 8°C下稳定存放不超过4周。
	孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
4	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5分钟	室温孵育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。	30 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
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。	定容至2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> •若样本 < 2 mL, 定容至5 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
8	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
9	重复以上步骤。	重复两次步骤7和8 (总共进行3次3分钟的分选)	重复两次步骤7和8 (总共进行3次3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™小鼠 CD4 正选试剂盒II的操作流程

		EASYSEP™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 0.25 - 1 mL	1 x 10 ⁸ 细胞/mL 0.5 - 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	将小鼠FcR PolyBlock加到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
3	在试管中制备分选抗体混合物。对于每1 mL样本，需制备50 µL抗体混合物 (25 µL组分A + 25 µL组分B)。	将等体积的组分A和组分B混合。 分选抗体混合物可在2 - 8°C下稳定存放不超过4周。	
	孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
4	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5分钟	室温孵育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。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
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。	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10分钟	室温孵育10分钟
8	小心地吸取**（切勿倾倒）上清液。 从磁极上取下试管；试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液
9	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。	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5分钟	室温孵育5分钟
10	小心地吸取**（切勿倾倒）上清液。从磁极上取下试管； 试管中含有分选后的细胞。	弃去上清液	弃去上清液
11	重复以上步骤。	步骤9和10 (总共进行1次10分钟和2次5分钟的分选)	步骤9和10 (总共进行1次10分钟和2次5分钟的分选)
12	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 CD4 正选试剂盒II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 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	将小鼠FcR PolyBlock加到样本中。	50 µL/mL样本	
3	在提供的RoboSep™空管中制备分选抗体混合物。 请参阅表4了解所需的体积。	混合等体积的组分A和组分B (参见表4)。 分选抗体混合物可在2 - 8°C下稳定存放不超过4周。	
	孵育。	室温孵育5分钟	
4	选择实验程序。	小鼠CD4正选II 18952v2	
5	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态	30秒	
6	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	
7	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。请确保从试管壁上收集细胞。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

表4. 制备RoboSep™分选抗体混合物

起始样本	组分A	组分B	分选抗体混合物总体积
0.5 mL	62.5 µL	62.5 µL	125 µL
1 mL	75 µL	75 µL	150 µL
1.5 mL	87.5 µL	87.5 µL	175 µL
2 mL	100 µL	100 µL	200 µL
3 mL	125 µL	125 µL	250 µL
4 mL	150 µL	150 µL	300 µL
5 mL	175 µL	175 µL	350 µL
6 mL	200 µL	200 µL	400 µL
7 mL	225 µL	225 µL	450 µL
8 mL	250 µL	250 µL	500 µL

注: RoboSep™全自动分选需要比手动分选操作流程多制备100 µL 分选抗体混合物才能正常运行。

注意事项和提示

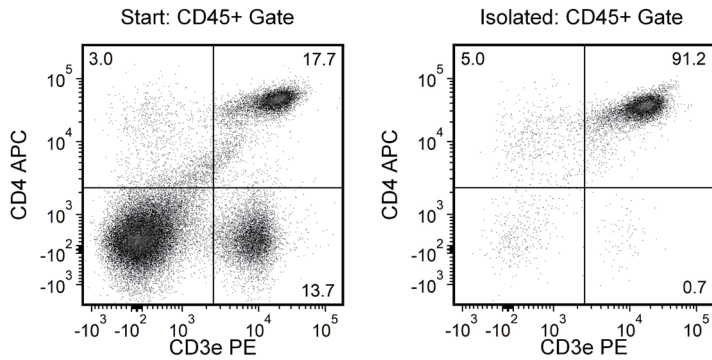
纯度评估

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：

- 抗小鼠CD4 抗体，克隆RM4-4（产品号 #60029）

注意：其它克隆可能会被阻断，使用前应进行测试。

实验数据



起始样本为小鼠脾细胞，分选后的CD4⁺细胞含量通常为 $94.8 \pm 3.5\%$ （平均值 \pm 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的纯度分别为20.7%和96.2%。

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、EasyEights、EasySep、RoboSep和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。所有商标为各自所有者所有。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，但对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。