

# EasySep™小鼠 CD4+ CD62L+ T 细胞分选试剂盒

可处理  $1 \times 10^9$  个细胞

产品号 #18765

产品号 #18765RF RoboSep™

正选

文档号 #1000035748 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

## 产品介绍

使用简单的两步法从小鼠脾细胞或其他单细胞悬液中分离高纯度的naïve CD4+ T细胞 (CD4+ CD62L+)。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、快速
- 纯度高达97%
- 无需分离柱

首先, 使用EasySep™小鼠Naïve CD4+ T细胞预富集抗体混合物 (产品号 #18765C) 中识别细胞特异性表面标志物的抗体对Naïve CD4+ T细胞进行预富集。然后, 被CD62L PE抗体标记的细胞被EasySep™ PE分选抗体混合物 (产品号 #18151) 选择性结合。EasySep™ 抗体混合物可将抗标记的细胞和磁珠相连。这些细胞可使用EasySep™磁极无柱分选。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。

## 包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™小鼠Naïve CD4+ T细胞预富集抗体混合物	18765C	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™ PE分选抗体混合物	18151	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™ 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™ 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。
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

在推荐缓冲液中机械分离脾脏。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, 并以  $1 \times 10^8$  有核细胞/mL的浓度重悬细胞于推荐缓冲液。

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); 或者含2%胎牛血清 (FBS) 和1 mM EDTA的PBS。HBSS, 调整配方 (不含Ca<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>; 产品号 #37250) 可用于代替PBS。缓冲液应该不含Ca<sup>++</sup>、Mg<sup>++</sup>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。

表1.EasySep™小鼠 CD4+ CD62L+ T 细胞分选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEPTM 磁极	
		 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 0.1 - 2 mL	1 x 10 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.25 - 8.5 mL
2	在样本中加入小鼠FcR阻断剂。	10 µL/mL 样本	10 µL/mL 样本
3	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)
4	在样本中加入预富集抗体混合物。 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10分钟	室温孵育10分钟
5	涡旋Streptavidin RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态	30 秒	30 秒
6	将Streptavidin RapidSpheres™磁珠加到样本中。	75 µL/mL 样本 注: 该试剂盒包含两种不同的磁珠。 确保此步骤中使用Streptavidin RapidSpheres™ 50001磁珠。	75 µL/mL 样本 注: 该试剂盒包含两种不同的磁珠。 确保此步骤中使用Streptavidin RapidSpheres™ 50001磁珠。
	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"> <li>●若样本 &lt; 4 mL, 定容至 5 mL</li> <li>●若样本 ≥ 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。	使用新的5 mL 流式管	使用新的14 mL 流式管
9	离心预富集的细胞。	在室温下以200 x g离心10分钟	在室温下以200 x g离心10分钟
	弃去上清液并按指定体积重悬细胞沉淀。§	<ul style="list-style-type: none"> <li>●对于起始体积 ≤ 0.3 mL的样本，重悬于0.1 mL中</li> <li>●对于起始体积 &gt; 0.3 mL的样本，重悬于0.25 mL中</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>●对于起始体积 ≤ 2 mL的样本，重悬于0.5 mL中</li> <li>●对于起始体积 &gt; 2 mL的样本，重悬于2 mL中</li> </ul>
继续至下一页。		继续至下一页。	继续至下一页。

		EASYSEPTM 磁极	
步骤	说明 (续)	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
10	在样本中加入PE分选抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。	40 µL/mL 样本	40 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
11	涡旋Dextran RapidSpheres™。 注意：磁珠应呈均匀分散状态	30 秒	30 秒
12	将Dextran RapidSpheres™磁珠加到样本中。	25 µL/mL 样本 注：该试剂盒包含两种不同的磁珠。 确保此步骤中使用Dextran RapidSpheres™ 50100磁珠。	25 µL/mL 样本 注：该试剂盒包含两种不同的磁珠。 确保此步骤中使用Dextran RapidSpheres™ 50100磁珠。
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
13	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"> <li>•若样本 &lt; 4 mL，定容至 5 mL</li> <li>•若样本 ≥ 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
14	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
15	重复以上步骤。	步骤13和14 (总共进行2次5分钟的分选)	步骤13和14 (总共进行2次5分钟的分选)
16	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。

§ 后续步骤中试剂的添加量取决于重悬后的样本体积。

## 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2。

表2. RoboSep™小鼠 CD4+CD62L+ 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 <sup>8</sup> 细胞/mL 0.5 - 8.5 mL	
2	在样本中加入小鼠FcR阻断剂。	10 µL/mL 样本	
3	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)	
4	选择实验程序。	小鼠Naive CD4+ T细胞预富集 18765	
5	涡旋Streptavidin RapidSpheres™。 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 注: 该试剂盒包含两种不同的磁珠。 确保此步骤中使用Streptavidin RapidSpheres™ 50001磁珠。	
	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。	取出含有预富集细胞的试管	
8	离心预富集的细胞。	在室温下以200 x g离心10分钟	
	弃去上清液并按指定体积重悬细胞沉淀。	<ul style="list-style-type: none"> <li>对于起始体积 ≤ 2 mL的样本，重悬于0.5 mL中</li> <li>对于起始体积 &gt; 2 mL的样本，重悬于 2 mL中</li> </ul>	
9	将样本添加到新的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)	
10	选择实验程序。	小鼠 CD4+ CD62L+ T 细胞正选 18765 (18151)	
11	涡旋Dextran RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态	30秒	
12	加载转盘。	根据屏幕上的提示操作 注: 该试剂盒包含两种不同的磁珠。 确保此步骤中使用Dextran RapidSpheres™ 50100磁珠。	
	启动实验程序。	按下绿色的“Run (运行)”按钮	
13	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	

RT - 室温 (15 - 25°C)

## 注意事项和提示

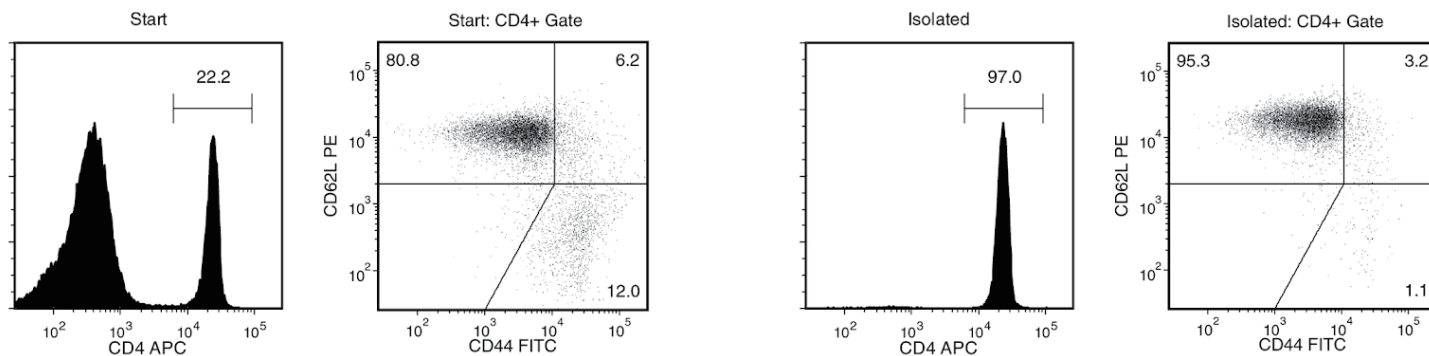
### 纯度评估

要通过流式细胞术评估naïve CD4+ T细胞 (CD4+ CD44<sup>low</sup> CD62L<sup>high</sup>) 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IM7 (产品号 #60068)

注: 正选的CD62L+细胞已带有PE标记, 因此可直接通过流式细胞术评估纯度。

### 实验数据



起始样本为小鼠脾细胞, 分选后的细胞中naïve CD4+ T细胞含量 (CD4+ CD44<sup>low</sup> CD62L<sup>high</sup>) 通常为91.7 - 96.7%。在上述实验中, 起始样本和分选后的目的细胞纯度分别为 17.9%和92.4%。

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、EasySep、RoboSep和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。其它注册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。